



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

FACOLTÀ DI AGRARIA

Dipartimento di Scienze Ambientali Agrarie e Biotecnologie Agro-Alimentari

**Scuola di Dottorato in Scienze dei Sistemi Agrari e Forestali e delle Produzioni
Alimentari. XXII Ciclo**

**Indirizzo: Biotecnologie Microbiche Agro-alimentari
(Responsabile Prof. G. A. Farris)**

Etudes Microbiologiques et physicochimiques des laits caprins et technologie fromagère améliorée: Cas du lait "Baladi" du Liban

Tutore

Prof. Pietrino Deiana

Co.Tutore

Prof. Georges Hassoun

Tesi di Dottorato di Ricerca

Dott. Ing. Edouard Tabet

ANNO ACCADEMICO 2008-2009

INTRODUCTION ET PROBLEMATIQUE

Parmi les races caprines domestiquées dans le monde entier, la race dite «Baladi» est une race dominante au Liban. Sa production a été traditionnellement intégrée dans le système d'élevage libanais; ceci est dû aux choix de la population qui préfère consommer le fromage blanc de chèvre aux autres fromages non seulement pour ses qualités organoleptiques mais aussi pour des traditions culinaires, sociales, climatiques et religieuses.

Les petits ruminants au Liban contribuent à 25% de la production laitière. Le cheptel caprin qui compte 495 000 têtes (Ministère de l'Agriculture Libanais, 2006) est constitué en majorité de la race Baladi (96,8% de l'effectif) qui est une race vigoureuse et robuste. Elle est adaptée au climat et aux conditions écologiques spécifiques de la partie Est du Bassin Méditerranéen. Elle tolère les mauvaises conditions nutritionnelles en élevage extensif, les maladies régnantes dans la région et la sécheresse traduite par une faible valeur alimentaire. La race Baladi est de taille moyenne parmi les races laitières, elle est relativement petite par rapport aux autres races.

La production de lait de chèvre au Liban connaît depuis plusieurs années un progrès constant (269 000, 294 000 et 361 000 tonnes/an en 2000, 2002 et 2004 respectivement) malgré les contraintes biologiques, sanitaires et socio-économiques (Recensement agricole, Ministère de l'Agriculture, 2005). Ce lait est surtout destiné à la consommation directe, il est aussi cuisiné ou transformé exclusivement en fromage blanc et en Labneh : cette production est mal valorisée faute de connaissances et d'expertises en terme de transformations technologiques ou faute d'études économiques globales et approfondies dans ce domaine. Cependant, il y a très peu d'informations d'ordre scientifique et technique sur le lait de chèvres produit par les différentes races élevées au Liban. Les entreprises libanaises ont recours aux techniques divulguées, entre autre par l'Europe, et essayent de les adapter aux conditions qui prévalent dans le pays.

La valorisation et l'amélioration des productions caprines traditionnelles au Liban sont des enjeux de grand impact sur le développement économique et social des régions agricoles surtout si l'on perfectionne les contrôles hygiéniques sanitaires, et les contenus nutritionnels, sensoriels ainsi que la prolongation de vie sur étagère du fromage de chèvre. En d'autres termes, aider l'agriculteur en lui transférant une technique d'amélioration de la qualité du fromage caprin et en lui permettant de proposer un fromage apprécié tout au

long de l'année, permettra de l'occuper, de l'accommoder aux besoins continuels du marché et certainement d'encourager son attachement à sa terre et à son village.

La transformation de ce lait en fromage affiné à pâte molle relève d'une innovation et de sa valorisation qualitative ayant un impact sur le développement économique et social des régions agricoles. En effet, le lait de chèvre est classé premier du point de vue vitesse d'acidification indépendamment de la souche de bactéries utilisées (Casalta et al., 1995). La production d'un produit laitier de haute gamme, conforme aux normes des points de vue hygiéniques et sanitaires, et apprécié au niveau nutritionnel et sensoriel, entre dans le cadre d'une valeur ajoutée.

Par ailleurs, le consommateur libanais, bien qu'attaché à des mets et à des préparations traditionnelles, a toujours tendance à adopter les goûts et les coutumes européennes ou américaines qui vont toujours de paire avec l'amélioration de son niveau de vie. Avec le progrès de la qualité de vie au sein des familles, les jeunes se voient plus sensibles aux produits importés et apprécient mieux le fromage en particulier. Cette nouvelle tendance chez les jeunes serait expliquée par leur désir de se prouver qu'ils sont capables d'adopter des habitudes culinaires exotiques dans leur vie quotidienne voire d'habituer leurs papilles à de nouveaux goûts.

De tels objectifs peuvent être additionnés à des recherches adéquates sur le lait de la race Baladi, suivies d'applications technologiques qui enrichissent les perspectives du développement du secteur laitier, permettant par conséquent la résolution de différents problèmes.

Les enjeux de l'amélioration sont multiples et impliquent l'assurance qualité au niveau de contrôles hygiéniques et sanitaires. Cette assurance dépend de la qualité physicochimique, microbiologique et organoleptique du produit fini. Être apte de produire un fromage de telle qualité avec une longue durée de vie serait un objectif ambitieux et économique.

Notre principale activité de recherches était d'évaluer les qualités microbiologiques et physicochimiques des divers laits de chèvres produits au Liban en vue d'en déterminer le meilleur lait choisi, qui a servi par la suite à la production d'un fromage de chèvre à pâte molle affinée selon la recette du fromage de brebis Pecorino Sardo type Caciotta. Dans cette transformation fromagère nouvelle en son genre au Liban, toute l'assurance concernant les contrôles hygiéniques et sanitaires a été impliquée, afin de fournir un fromage haut de gamme. Choisir le meilleur lait produit au Liban et arriver à

produire un fromage de telle qualité avec une longue durée de vie sur étagère serait notre ambitieux objectif économique.

L'originalité de notre sujet d'études est qu'il est le premier à mener une telle étude microbiologique et physicochimique des divers laits caprins produits au Liban et à interpréter les relations qui existent entre ces propriétés. Son importance socio-économique est qu'il fournit un fromage typique, élaboré et nouveau suite à une panoplie d'études microbiologiques, physicochimiques et sensorielles.

MATERIEL ET METHODES

L'étude était répartie sur deux phases consécutives. La première était de recueillir les laits et de choisir le meilleur. La deuxième était de transformer ce lait en fromage et de l'étudier. L'étude avait débuté au mois de mars 2007 et s'est achevée en mai 2009. La 1^{ère} phase a consisté à prélever des échantillons de lait de différentes races caprines élevées au Liban au cours de la saison de traite des différentes régions géographiques réparties en fonction de l'altitude (basse [0-300m], moyenne [500m-900m] et haute altitude [>1000m]) et au niveau de la plaine de la Békaa [1000-1200m] entre les mois de mars et d'octobre 2007. Dans le même cadre, des prélèvements étaient effectués sur 60 têtes de chèvres en se basant sur le mode d'élevage (extensif et intensif), la saison de lactation (début, pic et fin de la saison) et la race (Baladi, Chami, Alpine et Saanen qui représentent actuellement les quatre races majoritaires élevées au Liban) Tableau 1.

Tableau 1. Signalement des individus

Nom de l'exploitation	Région	Altitude	Elevage	Alimentation	Race	N° éch. P1, P2, P3	N° de lactation
Fondation René Mouaward	Zgharta	Basse (0-300m)	Intensif	Fourrage et concentré*	Alpine	1;2;3	2 ^{ème} **
					Saanen	4;5;6	
					Chami	7;8;9	
					Baladi	10;11;12	
Ferme Joseph Hokayem	Bzommar	Moyenne (500-900m)	Intensif	Fourrage et concentré*	Alpine	13;14;15	2 ^{ème} **
					Saanen	16;17;18	
					Chami	19;20;21	
					Baladi	22;23;24	
Chal	Lessa	Haute (>1000m)	Intensif	Fourrage et concentré*	Alpine	25;26;27	2 ^{ème} **
					Saanen	28;29;30	
					Chami	31;32;33	
					Baladi	34;35;36	
Mr Georges Njeim	Sahel Alma	Basse (0-100m)	Extensif	Végétation de basse altitude ¹	Chami	37;38;39	2 ^{ème} **
					Baladi	40;41;42	
Mr Rouhana Fahed	Achkout	Moyenne (500-900m)	Extensif	Végétation de moyenne altitude ²	Chami	43;44;45	2 ^{ème} **
					Baladi	46;47;48	
Gitanes arabes	Ouyoun al Siman	Haute (>1000m)	Extensif	Végétation de haute altitude ³	Chami	49;50;51	2 ^{ème} **
					Baladi	52;53;54	
Famille Mchek	Baalbak	Bekaa (>1000m)	Extensif	Paille de blé, d'orge, luzerne, maïs...	Chami	55;56;57	2 ^{ème} **
					Baladi	58;59;60	

*:15.5% de protéines et dont les constituants sont le maïs, le son, l'orge, le soja, le coton, des sels minéraux et des vitamines.

** : Traite manuelle, éch: échantillon, P1: 1^{ère} Prise début de lactation, P2: 2^{ème} prise mi lactation, P3: 3^{ème} prise fin lactation.

1 : Kandoul (*Calycotome villosa*), Nfleh (*Trifolium spp*), Bellan (*poterium spinosum*), Boutoum (*Pistacia lenntiscus*), sindiyan (*Quercus calliprinos*), Zaarour (*Zaarour Crataegus spp*)...

Autore : Edouard Tabet

Titolo: Etudes Microbiologiques et physicochimiques des laits caprins et technologie fromagère améliorée: Cas du lait "Baladi" du Liban

Tesi di Dottorato in Scienze dei Sistemi Agrari e Forestali e delle Produzioni Alimentari
Università degli Studi di Sassari

2: Sindiyan (*Quercus calliprinos*), ward barri(*Rosa spp*), bellan (*poterium spinosum*), Kandoul (*Calycotome villosa*), laouz barri (*Amygdalus spp*) ...

3: Lezaik(*Parietaria judaica*), chaouk (*carduus spp.*, *Cirsium spp.*, *Carthamus spp*), barbris(*Berberis libanotica*), ward barri (*Rosa spp*)

Suite aux résultats obtenus à la fin de la 1^{ère} phase, (dans laquelle a été prouvé que la chèvre locale Baladi vivant à une altitude moyenne, 500-900 m, dans un système d'élevage extensif et alimentée d'herbe fraîche et supplémentée de concentrés et dans des conditions hygiéniques et sanitaires adéquates) la 2^{ème} phase a été entamée et a duré 6 mois. Trois transformations fromagères ont été effectuées, chacune à partir de 100 litres prélevés au début (T1), au milieu (T2) et à la fin (T3) de la saison de lactation. Les échantillons ont été collectés auprès des fermiers (retirés de l'échantillonnage de la 1^{ère} phase) dont le lait Baladi avait été testé et prouvé de bonne qualité.

Les analyses microbiologiques, physicochimiques ainsi que les transformations fromagères, l'affinage du fromage et les analyses organoleptiques ont été effectuées dans les locaux des laboratoires de la Faculté des Sciences Agronomiques de l'USEK - Liban. Quelques analyses microbiologiques et chimiques ont été effectuées au laboratoire de l'Institut de Recherches Agronomiques du Liban «IRAL» à Fanar.

1. ORGANISATION DU TRAVAIL

1.1. Plan d'échantillonnage de la 1^{ère} phase

Trois chèvres de poids moyen 70 kg ont été choisies de chaque ferme répondant aux critères de races, altitude et mode d'élevage citées ci-dessus (Tableau 1). La ration alimentaire des animaux durant la période de l'étude était similaire; elle était formée principalement de paille et de concentrés de 15,5% de protéines. Les constituants sont le maïs, le son, l'orge, le soja, le coton, les sels minéraux et les vitamines.

Les chèvres ont été choisies en fonction de leur historique, elles étaient toutes saines et avaient subi le même contrôle hygiénique durant les trois prises d'échantillon.

Le protocole de la prise des échantillons en fonction des critères du mode d'élevage, de l'altitude et de la race est détaillé dans la figure 1.

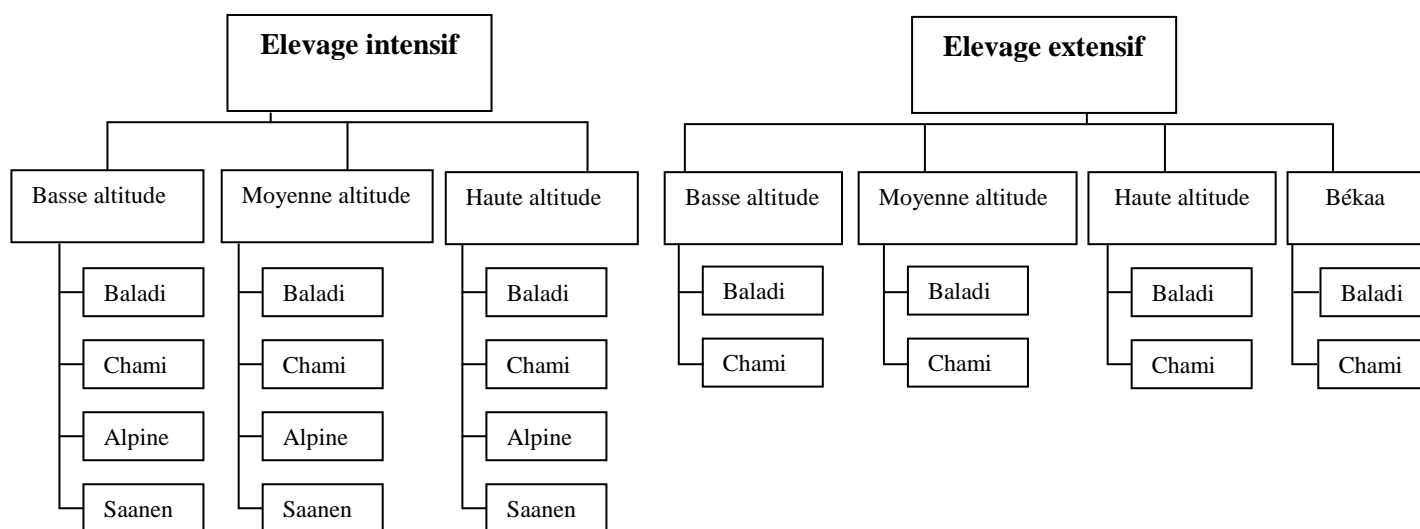


Figure 1 : Schéma montrant le protocole de l'échantillonnage de la 1^{ère} phase en fonction du mode d'élevage, de l'altitude et de la race.

1.2. Choix du lait de la 2^{ème} phase.

Les chèvres ont été choisies en fonction de leur anamnèse. Elles sont toutes saines et ont subi un examen clinique et un contrôle hygiénique durant les trois prises des échantillons de lait T1, T2 et T3. Elles sont élevées dans un système extensif en moyenne altitude (600-800 mètres). Tous les échantillons de lait prélevés étaient analysés dès leur arrivée au laboratoire et avant chaque transformation afin de tester leur qualité physicochimique et microbiologique.

1.3. Durée de l'étude.

La 1^{ère} phase de notre étude a débuté au mois de mai et s'est achevée en octobre 2007 (environ 8 mois), elle a été divisée en 3 périodes : début de lactation (mars), pic de lactation (mai) et fin de lactation (octobre). Figure 2.

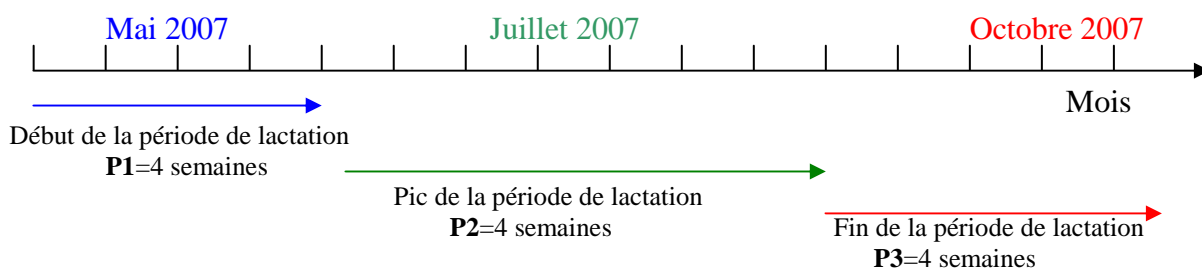


Figure 2 : Périodes de l'échantillonnage de la 1^{ère} phase

Auteur : Edouard Tabet

Titolo: Etudes Microbiologiques et physicochimiques des laits caprins et technologie fromagère améliorée: Cas du lait "Baladi" du Liban

Tesi di Dottorato in Scienze dei Sistemi Agrari e Forestali e delle Produzioni Alimentari
 Università degli Studi di Sassari

Les trois transformations fromagères effectuées ont eu lieu entre le mois de mai et de septembre 2008. Elles ont été réparties selon la courbe de lactation T1 au début (mai/juin), T2 au milieu (juillet/août) et T3 à la fin de la lactation (septembre/octobre) (Figure 3).

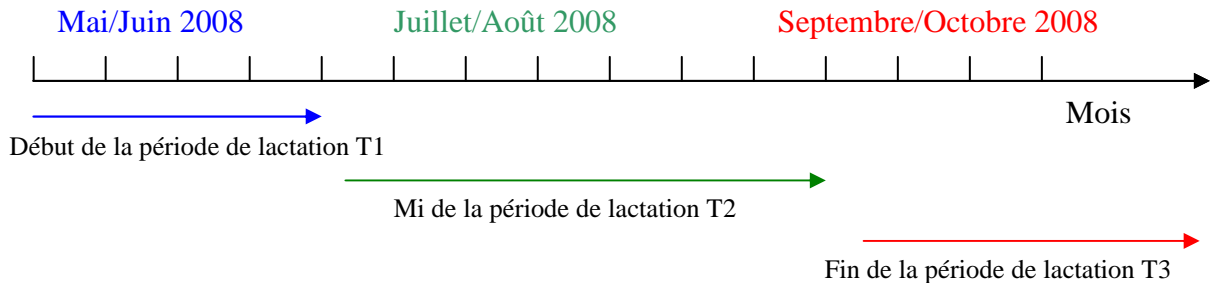


Figure 3. Périodes des transformations fromagères T1, T2 et T3, correspondant à la 2^{ème} phase

1.4. Collecte et conservation du lait

La prise des échantillons de lait à été faite selon les recommandations du Codex Alimentarius. La traite des chèvres s'effectuait le soir. Une demi-heure après sa collecte, le lait était déposé au laboratoire de l'USEK et réfrigéré à une température de +4°C. Les transformations fromagères avaient eu lieu le lendemain, après 12 heures. La durée maximale autorisée pour le stockage du lait avant sa transformation est de 40 heures à la température de +4°C (Bonfoh *et al.*, 2006).

2. PROTOCOLE EXPERIMENTAL DE LA TRANSFORMATION FROMAGERE

2.1. Préparation du levain

Les 3 souches de bactéries lactiques utilisées pour la préparation étaient: *Lactococcus lactis* (L.L.) (MicroBiologics, LOT 149044, ATCC 19435, REF 0149P, MediMark®Europe) *Lactobacillus caséi* (L.C.) (MicroBiologics, LOT 176035, ATCC 393, REF 0176P, MediMark®Europe) et *Streptococcus thermophilus* (S.T.) (MicroBiologics, LOT 136061, ATCC 19258, REF 0136V, MediMark®Europe). La préparation du levain a été faite selon le schéma décrit ci-dessous :

- Stériliser 160 mL de lait à 120°C pendant 10 minutes dans un autoclave.
- Répartir le lait stérilisé en 3 lots de 50 mL chacun dans des bouteilles stériles et le 4^{ème} lot de 10 mL pour vérifier la stérilisation.

- Refroidir le lait stérilisé dans un bain-marie à 37°C.
- A l'aide d'une micropipette prendre 0,1 mL de lait stérilisé du 4^{ème} lot et ensemencer respectivement 4 boîtes de pétri NA, MC à 30°C, MSA à 37°C et une boîte de pétri MC à 42°C (Tableau 2).

Tableau 2. Milieux de culture utilisés et correspondant à chaque type de bactéries recherchés

Bactéries	Milieux de culture	Température d'incubation et condition de culture
❖ Mésophiles totaux	NA	30°C
❖ Coliformes totaux	MC	30°C
❖ Coliformes fécaux	MC	42°C
❖ Staphylocoques aureus	MSA	37°C
❖ Salmonelles	SS	37°C
❖ <i>Lactococcus lactis</i>	MRS	37°C, anaérobie
❖ <i>Lactobacillus casei</i>	MRS	37°C, anaérobie
❖ <i>Streptococcus thermophilus</i>	M17	42°C, anaérobie

- Incuber toutes les cultures aérobiquement pendant 24 heures et vérifier la stérilité du lait par l'absence des colonies bactériennes sur la surface des boîtes de pétri.
- suspendre une capsule lyophilisée de *Str. thermophilus*, une capsule lyophilisée de *Lact. lactis* et une capsule lyophilisée de *L. casei* dans trois tubes eppendorf stériles contenant chacun 1 mL de lait stérilisé.
- Identifier les bactéries à l'aide d'une coloration de Gram.
- Cultiver les bactéries *Str. thermophilus* sur des boîtes de pétri M17 et incuber dans des conditions anaérobiques à 42°C dans une jarre munie de gaz packs (des sachets qui assurent les conditions d'anaérobiose) pendant 48 heures. Cultiver les bactéries *Lact. lactis* et *L. casei* sur des boîtes de pétri MRS à 37°C dans des conditions d'anaérobiose pendant 48 heures.
- Mettre les trois bouteilles contenant chacune 50 mL de lait stérilisé dans un bain-marie à 37°C, puis inoculer respectivement par les trois souches de bactéries qui ont poussées sur les boîtes de pétri M17 et MRS par un simple raclage de toutes les colonies avec une anse en platine.

- Incuber les bouteilles de laitensemencées pendant 8 heures. Les *Lact. lactis* et *L. casei* à 37°C et *Str. thermophilus* à 42°C.
- Après 8 heures d'incubation une coagulation du lait se forme dans les bouteilles ce qui prouve l'activité enzymatique des bactéries ; puis conservation des bouteilles au réfrigérateur à +4 °C.
- Après 24 heures, pasteuriser 15 litres de lait à 65°C pendant 20 minutes dans un bain-marie, puis distribuer dans 3 ballons à raison de 5 litres chacun.
- Vérifier la pasteurisation du lait par une culture de 0,1 mL de lait sur NA, MC à 30°C et MSA à 37°C pendant 24 heures dans des conditions d'aérobiose.
- Ajouter le lait coagulé de chaque souche dans chacun des trois ballons respectivement. A noter que les bouteilles sont rapportées à 37°C dans un bain-marie.
- Après 10 heures d'incubation, retirer les ballons contenant le lait coagulé de l'incubateur.
- Un jour plus tard, remplir le levain dans des bouteilles stériles et étiquetées et conserver à -85° C en vue d'une future utilisation.
- Afin de maîtriser le processus d'affinage, le dénombrement de chaque souche lactique a été effectué en prenant 1 mL de chaque ballon (*Str. thermophilus*, *Lact. lactis* et *L. casei*) et le diluant dans 9 mL de MRS broth pour *Lact. lactis* à et pour et *L. casei* et dans 9 mL de M17 broth pour *Str. thermophilus* selon la technique d'Unité Formatrice de Colonie UFC et en faisant 5 dilutions successives. Mettre 0,1 mL de la 4^{ème} et 5^{ème} dilution dans des boîtes de pétri de MRS à 37°C pendant 48 heures dans les conditions anaérobiques pour *Lact. lactis* et pour *L. casei* (De Man *et al.*, 1960), alors que dans des boîtes de pétri de M17 à 42°C pendant 48 heures dans les mêmes conditions pour *Str. thermophilus*.

L'identification des bactéries lactiques était faite à l'aide d'une coloration de Gram.

2.2. Transformation et affinage du fromage

Le fromage a été transformé puis affiné dans une chambre froide à une température constante de 10°C et une humidité relative constante de 85%. Des échantillons du fromage

transformé ont été prélevés et analysés de point de vue microbiologique, physicochimique et organoleptique selon un calendrier précisé dans le tableau 3. Le panel organoleptique comporte une série de questions concernant la texture, la couleur, l'odeur, le goût, la croûte...etc.,

Tableau 3. Fréquence des échantillons pour les analyses microbiologiques, physicochimiques et sensorielles de T1, T2 et T3

Transformation	0 jour	3^{ème} jour	30^{ème} jour	60^{ème} jour	90^{ème} jour
T1	17/6/08	20/6/08	17/7/08	16/8/08	17/9/08
T2	29/7/08	1/8/08	29/8/08	29/9/08	29/10/08
T3	2/9/08	5/9/08	2/10/08	3/11/08	2/12/08

Les trois transformations fromagères ont été faites, à partir de 100 litres de lait de chèvre Baladi chacune, selon le plan décrit ci-dessous :

1. Recueillir le lait.
2. Analyser le lait à la réception (analyses microbiologiques et physicochimiques).
3. Filtrer le lait des impuretés.
4. Pasteuriser le lait à 70°C pendant 9 secondes.
5. Vérifier la réussite de la pasteurisation.
6. Refroidir le lait à 40°C.
7. Inoculer les bactéries lactiques (levain ou starter), dans une proportion de 1% de chaque souche; sachant que la population de chaque souche lactique doit être comprise entre 1×10^6 et 4×10^6 germes/ml.

Le nombre des bactéries lactiques à inoculer est fixé à 4×10^6 germes/ml. D'après le dénombrement des bactéries lactiques (*Str. thermophilus*, *Lact. lactis* et *L. casei*), les quantités du levain ajoutées pour chaque souche sont les suivantes :

- ✓ 74 mL pour la souche *Str. thermophilus*
 - ✓ 30 mL pour la souche *Lact. lactis*
 - ✓ 1333 mL pour la souche *L. casei*
8. Ajouter la présure à raison de 1 g dans 100 litres de lait (Présure de 1:10000). Dans cette étape il faut que le pH soit entre 6 et 6,2 pour une bonne activité du levain.
 9. Temps de coagulation 2 heures

10. Temps de rassemblement 2 heures.
11. Rompre le caillé (Diminution à la taille d'une noisette).
12. Mouler jusqu'au bord du moule. Après 20 minutes retourner le caillé dans un 2nd moule. Cette opération (retournement) a été répétée chaque demi-heure, à raison de 3 à 4 fois.
13. Après le moulage de 5 heures, on procède au salage à une température ambiante à raison de 40 minutes/100 g de fromage. La solution de sel est une solution saturée, elle est de 22° Baumé.
14. Sécher pendant une heure.
15. Placer dans la chambre d'affinage sous les conditions suivantes: Température: 10°C et Humidité: 85% pendant trois mois. Les fromages ont été retournés matin et soir pendant 3 à 4 jours.

3. PROTOCOLE EXPERIMENTAL DES ANALYSES MICROBIOLOGIQUES ET PHYSICOCHEMIQUES

Ci-dessous, le protocole expérimental des analyses microbiologiques et physicochimiques des divers tests conduits lors de cette étude.

3.1. Préparation et conservation des milieux de cultures

Les milieux de culture sont nécessaires pour la préparation du levain et les analyses microbiologiques du fromage après transformation et au cours de l'affinage. Les milieux de cultures solides utilisés sont les suivants: Gélose nutritive NA (HIMEDIA, M001A), Mac Conkey Agar MC (HIMEDIA, M007), Mannitol Salt Agar MSA (HIMEDIA, M118), *Salmonella Shigella* agar SS (HIMEDIA, M052), Man Rogosa Sharp MRS (HIMEDIA, M641) et M17 (HIMEDIA, M929); alors que les milieux de cultures liquides utilisés sont les suivants: Nutrient Broth NB (HIMEDIA, M002), *Salmonella Shigella* Broth (HIMEDIA, M052 part A and part B), MRS broth (HIMEDIA, M369) et M17 broth (MERCK, 1.15029.0500).

La préparation de ces milieux de culture se fait selon la recette indiquée pour chaque produit et les recommandations ISO 20128:2006 (E). Tous les milieux préparés sont conservés à +4° C, pour une période maximale de deux semaines, à l'exception du MRS qui devrait être conservé à l'abri de la lumière et à une température entre +4° C et

+7° C pour une période maximale de 10 jours: ISO 20128:2006 (E). Avant leur utilisation, les boîtes de pétri sont séchées à 37°C pendant environ 15 min afin de limiter l'excès d'humidité à leur surface :ISO 7218.

3.2. Protocole des analyses microbiologiques du lait

Conformément aux dispositions de la directive 92/46/CEE, les méthodes normalisées par l'AFNOR, le CEN, l'ISO et la FIL ainsi que les méthodes alternatives validées par l'AFNOR (2003) ont été utilisées, pour le contrôle microbiologique des divers échantillons de cette étude.

* **Jour 0:** Préparation des divers équipements, verreries, fiches, ainsi que la préparation des milieux de culture liquides: bouillon nutritif (HIMEDIA, M002) et sélénite (HIMEDIA, M052); et des milieux de culture solides: gélose nutritive (HIMEDIA, M001A), Mannitol salt agar (MSA), Mac Conkey (HIMEDIA, M007) et Salmonella Shigella (SS).

* **Jour 1:** Homogénéisation de l'échantillon avec une tige ou spatule stérilisée (à noter que l'échantillon était prélevé dans une boîte stérile) selon la méthode « Préparation des échantillons et dilution pour analyses microbiologiques : ISO 6887-1 et ISO 8261 »

- **Test:** Leucocyttest (SYMTECH): c'est un test rapide qui se base sur une estimation approximative de la quantité de leucocytes dans le lait par formation d'un gel coloré en « mauve gris » lors de l'ajout d'un coagulant antigénique sur le lait. Ce test donne une idée sur le risque d'une infection de mammite sub-clinique et de la durée de conservation du lait avant la transformation. La durée de test est de 15 minutes.
- **Test 2:** une prise de lait (1 mL) recueilli dans un tube éppendorf stérile et ajoutée d'un colorant antigénique (Brucella ring test) (0.03 ml). Le mélange est mis dans un incubateur fixé à 42°C pendant 24 heures., Le lait contenant des brucelles doit présenter un anneau bleuâtre. Dans cette étude, on ne tient compte que de la qualité hygiénique du lait cru, puisque la brucella est thermo résistante à la pasteurisation et elle peut poursuivre son développement dans les sous produits transformés à partir d'un lait contaminé mal pasteurisé.

- **Test 3:** une prise de 1 mL de lait est centrifugée à 1000 rpm pendant 5mn. La matière grasse se sépare et flotte à la surface du tube. Le culot se précipite dans le fond du tube et le lait dégraissé reste entre les deux phases. Un ensemencement de la matière grasse sera conduit par la suite sur les divers milieux de culture solide (MSA, Na, MC) ; il sera suivi par un ensemencement du culot sur les mêmes milieux de culture.
- **Test 4:** Ensemencement de 1ml de lait dans 9mL de sélénite (milieu d'enrichissement des salmonelles). Le mélange est incubé à 42°C pendant 24 heures.
- **Test 5:** Pour chaque échantillon des dilutions décimales ont été réalisés (François, 1986). Toutes les dilutions sont alors incubées à 42°C pendant 1 heure.
- **Test 6 :** Ensemencement sur gélose (Mc, MSA, NA) du mélange « nutrient broth –lait » après incubation d'une heure. Les cultures sont incubées à 37°C pendant 24 heures.

* **Jour 2:** Lecture des tests 2; 3 et 6

- Les mésophiles totaux seront comptés selon les méthodes de référence:
 - ISO 5541-1 (technique par comptage de colonies) pour des taux élevés (>100 ufc/g)
 - ISO 5541-2 (technique du nombre le plus probable) pour des taux bas (<100 ufc/g).
- Le dénombrement des *Escherichia coli* sera appliqué selon la méthode de référence: norme NF ISO 11866-2, 3 ou NF ISO 16649-1, 2 (technique par comptage de colonies)
- Dénombrement de *Staphylococcus aureus* par la méthode de référence: norme NF EN ISO 6888-1 ou 2 (technique par comptage de colonies)
- **Test 7:** Ensemencement sur SS du mélange sélénite lait (incubé à 37°C pendant 24 heures). La présence ou l'absence des salmonelles est alors évaluée et non le nombre de bactéries dans le lait testé

***Jour 3 :** Lecture du Test 7, selon la méthode de référence: norme NF EN ISO 6579 (ou norme ISO 6785) (technique de comptage de salmonelles).

3.3. Protocole des analyses microbiologiques du fromage

Au préalable il fallait préparer les équipements, verreries, fiches, les milieux de cultures gélosés et bouillons soit: NA, MC, MSA, NB, SS, MRS et M17, la suspension

mère et des dilutions décimales, en vue de l'examen microbiologique: NF EN ISO 6887-1:1999, ISO 8261:2001 et ISO 8261 IDF 122.

3.3.1. Analyses cellulaires, sérologiques et microbiologiques du lait cru à la réception et après pasteurisation appliquées lors de cette étude sont :

a) Analyse sérologique : Test de *Brucella*.

Mode opératoire

- ✓ Mettre 1 mL de lait recueilli dans un tube eppendorf stérile.
- ✓ Ajouter un colorant antigénique (*Brucella* ring test) (0,03 ml).
- ✓ Mettre le mélange dans un incubateur réglé à 42°C pendant 24 h.
- ✓ La formation d'un anneau bleuâtre montre la présence des brucelles.

b) Analyse microbiologique : Test de *Salmonella*.

Mode opératoire

- ✓ Ensemencer 1 mL de lait dans 9 mL d'un bouillon de sélénite, un milieu d'enrichissement des salmonelles.
- ✓ Incuber le mélange à 42° C pendant 24 h.
- ✓ Ensemencer le mélange «sélénite-lait » sur SS agar et incuber à 37° C pendant 24 h.
- ✓ La présence ou l'absence des salmonelles est faite selon la méthode de référence: norme NF EN ISO 6579 (ou norme ISO 6785) (technique de comptage de salmonelles).

c) Analyse microbiologique: Dénombrement total des bactéries mésophiles sur NA, coliformes totaux et fécaux sur MC et de *Staphylococcus aureus* sur MSA.

Mode opératoire

- ✓ Ensemencer 1 mL du lait dans 9 mL de bouillon nutritif, NB. C'est la première dilution (1/10), soit 10⁻¹.
- ✓ Etablir une série de 4 dilutions décimales jusqu'à arriver à la 4ème dilution, (François, 1986).
- ✓ Bien agiter le tube après chaque dilution à l'aide d'un vortex.
- ✓ Incuber toutes les dilutions à 42° C pendant 1 h.
- ✓ Etiqueter les boîtes de pétri suivant chaque dilution.
- ✓ Prendre 0,1 mL du mélange « nutrient broth-lait » de chaque tube avec une pipette stérile et l'ensemencer sur la surface des milieux gélosés NA, MC et MSA.

- ✓ Fermer les couvercles et enrober les boîtes avec du papier paraffine.
- ✓ Incuber les boîtes NA, MC à 30° C et MSA à 37° C pendant 24 h et MC à 42° C pendant 24 h.
- ✓ Les mésophiles totaux sont comptés selon les méthodes de référence:
 - ISO 5541-1 (technique par comptage de colonies) pour des taux élevés (>100 ufc/g).
 - ISO 5541-2 (technique du nombre le plus probable) pour des taux bas (<100 ufc/g).
- ✓ Le dénombrement des *Escherichia coli* est appliqué selon la méthode de référence : norme NF ISO 11866-2, 3 ou NF ISO 16649-1, 2 (technique par comptage de colonies).
- ✓ Le dénombrement de *Staphylococcus aureus* est appliqué selon la méthode de référence: norme NF EN ISO 6888-1 ou 2 (technique par comptage de colonies).

3.3.2. Analyses microbiologiques du fromage aux jours 0, 3, 30, 60 et 90 après affinage sont:

a) Dénombrement total des bactéries mésophiles, des coliformes totaux, des coliformes fécaux et de *Staphylococcus aureus*.

Mode opératoire

- ✓ Prélever 1g du fromage et l'ensemencer dans 9 mL de bouillon nutritif, NB.
- ✓ Etablir 5 dilutions au jour 0 et 7 dilutions pour 3, 30, 60 et 90 jours après affinage du fromage transformé.
- ✓ Bien agiter le tube après chaque dilution à l'aide d'un vortex et reprendre les mêmes étapes de l'analyse microbiologique du lait.

b) Dénombrement des bactéries lactiques.

Mode opératoire

- ✓ Prélever 1g du fromage et l'ensemencer dans 9 mL du bouillon MRS (pour compter *Lact. lactis* et *L. casei* à 37° C) et un autre dans 9 mL du bouillon M17 (pour compter *Str. thermophilus* à 42°C).
- ✓ Etablir 5 dilutions au jour 0 et 7 dilutions pour 3, 30, 60 et 90 jours après affinage du fromage transformé.
- ✓ Bien agiter le tube après chaque dilution l'aide d'un vortex.
- ✓ Etiqueter les boîtes de pétri suivant chaque dilution.

- ✓ Prendre 0,1 mL du mélange «MRS broth-fromage» et 0,1 mL du mélange «M17 broth-fromage» avec une pipette stérile et l'ensemencer sur la surface des boîtes des milieux gélosés MRS et M17 respectivement.
- ✓ Fermer les couvercles et enrober les boîtes de paraffine.
- ✓ Mettre les boîtes dans des jarres avec un sachet de gaz pack pour assurer les conditions anaérobiques.
- ✓ Incuber les boîtes MRS et M17 respectivement à 37°C et 42°C pendant 48h.

3.4. Protocole des analyses physicochimiques du lait

3.4.1. Méthode de dosage de l'eau et des solides totaux, NFV 04-207

La méthode thermogravimétrique est la méthode de référence pour la détermination de l'eau ou des solides totaux dans les aliments. L'analyse nécessite l'emploi d'une étuve ventilée ou d'un four à vide, ainsi que d'un dessiccateur contenant un agent desséchant.

Principe de la méthode NFV 04-207

- On pèse l'échantillon.
- On élimine l'eau par chauffage dans des conditions prédéterminées jusqu'à ce que la masse de l'échantillon demeure constante.
- On pèse l'échantillon sec, c'est-à-dire la quantité des solides totaux.
- Par soustraction de la quantité des solides totaux du poids initial de l'échantillon, la quantité de l'eau est ainsi déterminée

3.4.2. Méthode de dosage des cendres, NFV 04-208

Les cendres totales sont les résidus de composés minéraux qui restent après l'incinération d'une masse donnée d'un échantillon contenant des substances organiques d'origine animale, végétale ou synthétique. Les cendres représentent environ 1 à 5% de la masse d'un aliment sur une base humide (Afnor, 2003).

Principe de la méthode NFV 04-208

On pèse l'échantillon. On le sèche puis on le pèse de nouveau. La teneur en cendres doit être déclarée sur une base sèche. On incinère l'échantillon à haute température 504°C, puis on pèse le résidu, c'est-à-dire les minéraux. Le pourcentage de

cenres totales est calculé sur une base humide, mais le plus souvent sur une base sèche pour plus de reproductibilité dans les résultats (Afnor, 2003).

3.4.3. Méthode de dosage des protéines, NFV 04-211

La méthode de Kjeldahl est une méthode de référence pour la détermination des protéines dans les aliments.

Principe de la méthode NFV 04-211

La détermination des protéines par la méthode Kjeldahl s'effectue sur trois étapes:

Étape 1: Digestion ou minéralisation de l'échantillon (Prolabo, DCO-Lab-6, Selecta, serial number : 0154311)

- Introduire quantitativement la prise d'essai dans un ballon à minéralisation de Kjeldahl ayant une capacité appropriée (généralement 800 mL).
- Ajouter le sulfate de potassium; si on utilise le mercure comme catalyseur, une quantité de 10 g est suffisante; avec l'oxyde de cuivre ou sulfate de cuivre, il est nécessaire de prendre 15 g.
- Ajouter une quantité appropriée de catalyseur ; 0,65 de Hg.

Étape 2 : Chauffage

- Chauffer avec modération, en agitant de temps en temps, jusqu'à la carbonisation de la masse et la disparition de la mousse; chauffer ensuite plus fort jusqu'à ébullition régulière du liquide. Le chauffage est correct si l'acide bouillant se condense au niveau du milieu du col du ballon Kjeldahl.

Étape 3: Distillation de l'ammoniac (Kjeldis, Prolabo)

- Ajouter 250 à 350 mL d'eau pour dissoudre complètement les sulfates.
- Laisser refroidir.
- Introduire dans la fiole de récupération de l'appareil à distillation 25 ml d'acide sulfurique 0,1 N ou 0,25 N selon la teneur en azote non précise et ajouter quelques gouttes de l'indicateur de Tashiro (dissoudre 2 g de rouge de méthyle et 1 g de bleu de méthylène dans 1000 mL d'éthanol à 95%).
- Introduire lentement dans le ballon à minéralisation le long de la paroi 125 mL de solution d'hydroxyde de sodium.
- Relier immédiatement le ballon à l'appareil de distillation. Chauffer le ballon de façon à distiller 150 mL environ de liquide en 30 min. Après ce laps de temps,

vérifier la neutralité du distillat qui s'écoule de l'extrémité du réfrigérant au moyen de papier de tournesol. Si la réaction est alcaline poursuivre la distillation.

Étape 4: Titration de l'ammoniac

- Titrer dans le flacon collecteur l'excès d'acide sulfurique par la solution d'hydroxyde de sodium 0,1 N ou 0,25 N, selon la normalité de l'acide sulfurique utilisé, jusqu'à changement de coloration.

➤ **Essai à blanc**

Effectuer un essai à blanc en utilisant environ 1 g de saccharose comme prise d'essai.

➤ **Essai témoin**

Effectuer un essai témoin en déterminant la teneur en azote d'un composé organique connu, par exemple de l'acétanilide ou du tryptophane et en ajoutant 1 g de saccharose.

Étape 5 : Mode de calcul de la teneur en azote total

Si les quantités d'acide sulfurique utilisées pour récupérer l'ammoniac dans le cas de l'essai à blanc et dans le cas de la prise d'essai sont égales, la teneur en azote total, exprimée en pourcentage en masse du produit, est alors égale à :

$$(V_0 - V_1) \times T \times 0,014 \times 100 / m$$

-**V₀** est le volume, en millilitres, de la solution d'hydroxyde de sodium utilisée pour l'essai à blanc.

-**V₁** est le volume, en millilitres, de la solution d'hydroxyde de sodium utilisée pour la prise d'essai.

-**T** est la normalité de la solution d'hydroxyde de sodium utilisée lors du titrage,

-**m** est la masse, en grammes, de la prise d'essai.

- Calculer la teneur en protéines brutes du produit en multipliant la teneur en azote total par le facteur 6,38.

3.4.4. Méthode de détermination du taux butyreux, NFV 04-210

Plusieurs méthodes sont utilisées pour le dosage de la matière grasse, mais, la technique acido-butyrométrique de GERBER reste la plus répandue car elle représente une méthode rapide et de grande fiabilité.

Principe de la méthode NFV 04-210

Cette méthode consiste en une attaque du lait par l'acide sulfurique ($d_{20} = 1,82 \pm 0,005$) et la séparation de la matière grasse libérée, par centrifugation en présence d'alcool isoamylique et en utilisant des butyromètres gradués. Le dosage de la matière grasse peut renseigner sur l'écémage et le mouillage, car ce dernier fait abaisser la teneur en matière grasse du lait.

3.4.5. Méthode Lane-Eynon

La méthode Lane-Eynon est une méthode volumétrique de détermination des sucres réducteurs totaux dans les aliments. C'est une méthode empirique qui relie, à l'aide d'une table de conversion, une quantité de sucres réducteurs contenus dans un volume de solution alimentaire requis pour réduire un volume donné de réactif de Fehling.

Principe de la méthode Lane-Eynon

La méthode est basée sur la capacité des sucres réducteurs de réduire l'hydroxyde cuivrique en oxyde cuivreux. On titre à chaud un volume donné de réactif de Fehling (10 mL ou 25 mL) à l'aide d'une solution de l'aliment contenant le ou les sucres réducteurs. L'indicateur Bleu de méthylène est utilisé pour rendre plus claire la disparition de la couleur bleue du réactif de Fehling (point de virage). Le volume de solution alimentaire utilisé pour le titrage est converti en mg de sucres réducteurs à l'aide d'une table de conversion.

3.4.6. Dosage du calcium

Plusieurs méthodes de détermination peuvent être utilisées pour évaluer le taux de calcium dans le lait, la méthode titrimétrie de l'EDTA peut être appliquée puisqu'elle est précise et peu onéreuse.

Principe de la méthode

Le dosage du calcium dans le lait se fait à un pH élevé (12-13), le magnésium est précipité sous forme d'hydroxyde et n'intervient pas. Par ailleurs, l'indicateur choisi, l'acide calcione carboxylique ne se combine qu'avec le calcium pour former un complexe rouge.

Dans une fiole conique de 250 mL, introduire successivement :

- Lait à analyser 50mL
- Solution d'hydroxyde de sodium 2mL
- Indicateur 0,2 g environ
- Ajouter la quantité d'EDTA nécessaire pour avoir un virage au bleu.
- Soit (y) le nombre de millilitres versés.

Effectuer le dosage une deuxième fois. Prendre la moyenne des deux résultats soit V le volume ainsi déterminé.

- Pour une prise d'essai de 50 mL, la teneur en calcium est égale à:

$$\text{Ca (mg/L)} = V \times f \times 0,4008 \times 1000 / 50$$

La teneur en carbonate de calcium est égale à:

$$\text{CaCO}_3 \text{ (mg/L)} = V \times f \times 1000 / 50$$

3.4.7. Dosage du phosphore

Il est connu que le phosphore dans le lait est fortement instable et la méthode de sa détection est relativement difficile. La méthode de spectrophotométrie (700nm) (Jenway, IC6500/10) a été utilisée pour le dosage du phosphore dans le lait.

Principe de la méthode

La méthode de Briggs utilise le réactif molybdique (corrosif) et l'hydroquinone (nocif) dans le but de quantifier les phosphates du lait par spectrophotométrie.

On utilisera la solution étalon de concentration en phosphore égale à 10 mg L⁻¹ pour préparer la gamme suivante contenant de 0 à 50 mg de phosphore. Laisser reposer 20 min à l'obscurité et lire l'absorbance de chaque tube contre le blanc à 700 nm.

Dans un tube à essai, introduire :

2 mL de solution S (lait), 5 mL d'eau distillée, 1 mL de réactif molybdique, 1 mL d'hydroquinone à 1 %, et 1 mL de sulfite de sodium à 20 %.

Laisser reposer 20 min à l'obscurité et lire l'absorbance dans les mêmes conditions que la gamme.

3.4.8. Dosages des acides gras

La composition des acides gras du lait est déterminée en trois opérations : extraction éther ammoniacale de la matière grasse (MG) du lait, méthylation et analyse par chromatographie en phase gazeuse (ISO 5508 Analyse en chromatographie à phase gazeuse).

Principe de la méthode

L'extraction de la matière grasse se fait à partir de 40 mL de lait sur lesquels sont ajoutés 4 mL NH₄OH, 3 gouttes de phénolphthaléine, 40 mL d'éthanol, 25 mL d'éther de pétrole, 25 mL d'éther di éthylique.

La phase organique est récupérée après 30 minutes et évaporée dans une étuve à 104°C jusqu'à l'obtention du poids constant.

La MG est récupérée par 10 mL d'hexane et conservée à -20°C.

Pour la préparation des esters méthyliques, 1 mL d'hexane contenant 50 à 100 mg de MG pure est mis dans un tube à vis avec 200 µL de soude caustique 2N dans du méthanol. Le mélange est agité pendant 10 secondes. Il est ensuite porté à bain marie à 50°C pendant 20 secondes.

Pour éviter l'introduction d'agents alcalins dans la colonne du GC, 200 µL d'HCl méthalonique sont ajoutés au mélange après refroidissement.

Après décantation, la couche supérieure contenant les esters est recueillie.

Les acides gras sont dosés par chromatographie en phase gazeuse (THERMO) :

- Colonne : RTX WAX (30m, id 0,25mm).
- Température de l'injecteur : 250°C.
- Température de la colonne passe de 60 à 190°C à raison de 5°C/ min.
- Le volume d'injection est de 0,5 µL

Les aires des acides gras obtenus sont comparées à celles obtenus avec le mélange étalon (ME 16 ; INTERCHIM ; 90-1016) pour le calcul des différents pourcentages d'acides gras dans le lait.

3.5. Protocole des analyses physicochimiques du lait

Les analyses physicochimiques des échantillons du fromage transformé après 1, 3, 30, 60 et 90 jours d'affinage sont détaillées ci-dessous. A noter qu'au 3^{ème} jour d'affinage, seules les mesures du pH et le test d'acidité ont été effectués.

3.5.1. Mesure du pH

Le pH du fromage est mesuré à l'aide d'un pH-mètre (Thermo Orion 3 Star pH Benchtop). L'électrode insérée dans le fromage à la température ambiante relève la valeur du pH après l'avoir étalonné avec des solutions standard de pH 4, 7 et 10.

3.5.2. Acidité

L'acidité du fromage est exprimée en grammes acide lactique 100 g⁻¹ de fromage.

Mode opératoire (AOAC 920.124)

- Peser environ 10 g de l'échantillon bien macéré dans un bécher d'une capacité de 100 ml.
- Ajouter environ 50 mL de l'eau distillée à 40°C et mélanger.
- Transvaser dans une éprouvette de 250 mL et continuer avec de l'eau distillée à la même température jusqu'à 105 mL et bien mélanger.
- Filtrer le mélange dans un erlenmeyer en utilisant un papier filtre et un entonnoir.
- Prendre 25 mL du filtrat qui représente 2,5 g de l'échantillon testé et ajouter 2 gouttes de phénolphtaléine.
- Titrer avec de la soude caustique NaOH 0.1M (dans la burette) et agiter.
- Noter le volume V, en mL, où la couleur varie du blanc au rose persistant.
- Chaque 1 mL de NaOH = 0,009 g acide lactique.
- Répéter le titrage pour une 2^{ème} fois.

Le volume V de NaOH en mL neutralisant 2,5 g de fromage ; en faisant la règle de trois on calcule le volume V' qui neutralise 100 g de fromage.

Acidité du fromage = $V' \times 0,009$; exprimée en g acide lactique 100 g⁻¹ du fromage.

3.5.3. Humidité

Mode opératoire (AOAC 969.19)

- Peser une boîte d'aluminium vide et noter sa masse, tout en utilisant la balance de précision (AND 3100 g). Soit M cette masse.
- Peser 1 g de l'échantillon de fromage dans cette boîte et la mettre dans l'étuve pendant 1 h à la température de 102°C.
- 1 h après prendre la masse de la boîte. Soit m cette masse.
- Remettre la boîte dans l'étuve à la même température et pendant 1 h.
- Prendre de nouveau la masse. Soit m' cette masse.
- Il faut répéter cette opération pour que m soit égale à m'.

Humidité de l'échantillon en % : $100 - (m-M) \times 100$.

3.5.4. Matière sèche

Selon (NF V 04-282, ISO 5534), la matière sèche est calculée par une simple soustraction : 100 – humidité.

3.5.5. Teneur en Azote

La détermination de la quantité totale de protéines, de la teneur en azote total, azote non caséinique, azote non protéique ou en azote soluble dans l'eau se fait d'après la méthode Kjeldahl (AOAC 991.20 modifiée). C'est la préparation de l'échantillon qui varie ; elle s'effectue en quatre étapes :

Étape 1 : Digestion ou minéralisation de l'échantillon

- Introduire quantitativement la prise d'essai dans le tube à minéralisation.
- Ajouter 2 tablettes de pastilles (Kjeltabs CM, VELP, AA50) dans chaque tube. Chaque tablette contient 3,5 g de sulfate de potassium K_2SO_4 et 0,1 g de sulfate de cuivre II hydraté $CuSO_4 \cdot 5 H_2O$ jouant le rôle d'un catalyseur.
- Ajouter 15 mL d'acide sulfurique H_2SO_4 concentré, 96-98%.
- Ajouter 5 mL de l'eau oxygénée H_2O_2 , 35% qui joue le rôle d'un *antifoaming*.
- Effectuer un essai à blanc pour chaque digestion.
- Préparer la solution nécessaire à la digestion : 1 litre de NaOH, 22%, chaque fois qu'il y a des résidus dans le flacon.
- La digestion se déroule d'une façon ascendante, soit 4 cycles qui durent effectivement 3 h pour ce digesteur (DK 6 Heating Digester, SMS Scrubber, JP Recirculating Water Aspirator-VELP SCIENTIFICA) :
 - ✓ 150°C pendant 15 min.
 - ✓ 250°C pendant 15 min.
 - ✓ 300°C pendant 15 min.
 - ✓ 420°C pendant 60 min.

Étape 2 : Refroidissement des tubes

Laisser les tubes digérés se refroidir jusqu'à 50-60°C.

Étape 3 : Distillation et titrage de l'ammoniac

- Préparer les solutions nécessaires à la distillation :
 - ✓ Acide borique H_3BO_3 40%.
 - ✓ Ajouter 10 mL de bromocresol vert (0,1 g dans 100 mL éthanol) avec 7 mL de rouge de méthyle (0,1 g dans 100 mL éthanol) comme deux indicateurs colorés au ballon d'acide borique.
 - ✓ Hydroxyde de sodium NaOH 35%.

- ✓ Acide chlorhydrique HCl 0,2N.
- Les étapes de la distillation qui se déroulent sur le distillateur automatique (UDK 152 Distillation & Titration Unit-VELP SCIENTIFICA) :
 - ✓ Préchauffer la machine pendant 2,51 min.
 - ✓ Appuyer sur la touche automatique pour vérifier l'emplacement des tuyaux dans leurs flacons destinés pour utiliser cet appareil (NaOH, H₃BO₃, HCl, H₂O et Waste).
 - ✓ Mettre le tube digéré.
 - ✓ Choisir la méthode.
 - ✓ Pour chaque tube il y a un versement de :
 1. 50 mL eau distillée pour agrandir le volume.
 2. 40 mL NaOH pour libérer sous forme d'ammoniaque l'azote piégé dans H₂SO₄.
 3. 40 mL H₃BO₃ comme milieu récepteur, pour piéger l'ammoniaque.
 - ✓ H₃BO₃ varie du rouge au vert suite à l'ajout de l'azote digéré.
 - ✓ Le titrage se fait avec l'HCl dans la seringue, et par suite il y aura un virage de la couleur du vert au rouge.
 - ✓ Faire passer le tube blanc avant les échantillons pour éliminer les effets de l'interférent et l'effet de matrice.
 - ✓ Le volume versé de HCl = Le volume versé de HCl pour la prise d'essai - Le volume versé de HCl pour l'essai à blanc.

Étape 4 : Mode de calcul de la teneur en azote

Vérifier le calcul de l'appareil :

La teneur en azote exprimé en masse du produit (g/100g d'échantillon) est égale à :

$$\frac{(V1 - V0) \times N \times 0,014 \times 100}{m}$$

-**V0** est le volume, en mL, de la solution d'acide chlorhydrique utilisée pour l'essai à blanc.

-**V1** est le volume, en mL, de la solution d'acide chlorhydrique utilisée pour la prise d'essai.

-**N** est la normalité de la solution d'acide chlorhydrique utilisée lors du titrage = 0,2N

-**m** est la masse, en grammes, de la prise d'essai.

- Calculer la teneur en protéines brutes du produit en multipliant la teneur en azote total par le facteur 6,38.

3.5.5.1. Azote total

- Préparation de l'échantillon
 - Peser un gramme de fromage et le mettre dans le tube de digestion.
- Calcul
 - $m = 1$ g, et appliquer la formule suivante :

$$\text{NT} = (\text{V1} - \text{V0}) \times \text{N} \times 0.014 \times 100$$

3.5.5.2. Azote non caséinique

- Préparation de l'échantillon (Bütikofer *et al.*, 1993)
 - Peser 10 g de fromage macéré et broyé dans un bécher de 100 ml.
 - Ajouter 40 mL d'une solution de citrate trisodique 0,5M avec 60 mL de l'eau distillée.
 - Mélanger pendant 5 min.
 - Ajouter de l'acide chlorhydrique HCl 1N et ajuster à un pH de 4,6 le point isoélectrique de la caséine caprine.
 - Verser le mélange dans un erlenmeyer de 250 mL et compléter avec de l'eau distillée jusqu'à 250 ml.
 - Laisser reposer pendant 15 minutes.
 - Verser dans les tubes de 40 mL et centrifuger à 6 000 tours/10 min à 5°C.
 - Filtrer rapidement et minéraliser 25 mL du filtrat.
- Calcul
 - masse de fromage = $(10 \times 25) / 250 = 1$ g, et appliquer la formule suivante :

$$\text{NNC} = (\text{V1} - \text{V0}) \times \text{N} \times 0.014 \times 100$$

3.5.5.3. Azote non protéique

- Préparation de l'échantillon (Rowland *et al.*, 1938)
 - Peser 5 g de fromage macéré et broyé dans un bécher de 100 ml.
 - Ajouter 50 mL de citrate trisodique 0.5M.
 - Mixer pendant 5 min.

- Compléter à 100 mL par rinçages successifs.
 - Dans un bécher, placer 80 mL acide trichloroacétique 15% et 20 mL de solution citratée de fromage.
 - Agiter à l'aide d'un agitateur en verre.
 - Attendre exactement 5 min.
 - Filtrer et minéraliser 15 mL de filtrat.
- Calcul
- masse de fromage = $[(5 \times 20)/100] \times (15/100) = 0,15$ g et appliquer la formule suivante :

$$\text{NNP} = (\text{V1} - \text{V0}) \times \text{N} \times 0.014 \times 100 / 0.15$$

3.5.5.4. Azote soluble dans l'eau

- Préparation de l'échantillon (Bütikofer *et al.*, 1993)
- Peser 4 g de fromage macéré et broyé dans un bécher de 10 ml.
 - Ajouter peu à peu de l'eau chaude à 40°C jusqu'à immersion.
 - Refroidir dans un bécher de 100 mL et ajouter de l'eau jusqu'à 100 ml.
 - Ajouter 3 gouttes de formaldéhyde, agiter bien et mettre au réfrigérateur à 4°C pendant une nuit.
 - Filtrer rapidement et minéraliser 20 mL du filtrat.
- Calcul
- masse de fromage = $(4 \times 20) / 100 = 0,8$ g et appliquer la formule suivante:

$$\text{NS} = (\text{V1} - \text{V0}) \times \text{N} \times 0.014 \times 100 / 0,8$$

3.5.6. Teneur en matière grasse et en acide gras libre

La composition des acides gras du fromage est déterminée sur trois opérations successives: extraction de la MG du fromage, méthylation et analyse par chromatographie en phase gazeuse (AOAC 963.3).

3.5.6.1. Extraction de la matière grasse

- Préparation de l'échantillon
- Broyer l'échantillon de fromage.
 - Sécher dans l'étuve pendant 1 à 2 heures à la température de 105°C.
 - Peser 1 à 3 g de l'échantillon séché dans la cartouche. Soit m cette masse.

- Peser le bécher à vide destiné à recueillir la matière grasse. Soit M cette masse.
 - Verser 40 à 50 mL de Pétroleum éther (solvant d'extraction) dans le bécher.
 - Fixer la cartouche et le bécher remplis de solvant à leurs places dans l'appareil qui est automatique (Solvent Extractor SER-148-VELP SCIENTIFICA).
 - Ouvrir le robinet d'eau de l'appareil.
 - Lancer le système: chauffage (à 110°C), immersion, washing (début de l'ébullition), recovering.
 - Récupérer le solvant d'extraction dans la partie supérieure de l'appareil et la matière grasse dans le bécher d'extraction.
 - Peser le bécher après extraction de la matière grasse. Soit M' cette masse.
- Calcul du pourcentage de matière grasse
- Pourcentage de matière grasse en g dans 100 g de fromage : $(M' - M) \times 100/m$.

3.5.6.2. Méthylation ou estérification et analyse par chromatographie en phase gazeuse

- Préparation de l'échantillon
- Transvaser 4 à 5 gouttes de matière grasse dans des microtubes eppendorf.
 - Procéder pour la même façon pour l'huile de tournesol comme témoin qui est une huile végétale.
 - Ajouter pour chaque échantillon de matière grasse récupérée 0,5 mL MeKOH (KOH dissous dans le méthanol), le virage vers une couleur rouge est observé pour tous les échantillons à l'exception du tube témoin car cette huile est végétale.
 - Placer les micros tubes sur une plaque chauffante 80°C pendant 10 min.
 - Ajouter 0,5 mL de BF₃, Boron trifluorile-methanol-complexe solution C₂H₈BF₃O₂, M=131,89 g/mole pour casser la liaison peptidique.
 - Placer les microtubes sur une plaque chauffante 80°C pendant 10 min.
 - Ajouter 0,5 mL de l'eau distillée.
 - Ajouter le même volume d'hexane pure que celui de l'échantillon afin de dissoudre toutes les matières grasses dans l'hexane.

Toutes ces étapes servent à une injection qui ne présente que les acides gras, en éliminant les résidus insolubles et les déchets indésirables, et en détruisant les liaisons peptidiques par estérification.

Les acides gras sont dosés par chromatographie en phase gazeuse (GC-2010 SHIMADZU) :

- Colonne : RTX-WAX (30m, id 0.25mm), serial number : 787019.
- Température de l'injecteur : 250°C.
- Température de la colonne passe de la température ambiante à 220 °C.
- Le volume d'injection est de 2 µL.

Le calcul des différents acides gras dans le fromage et le temps de rétention des différents pics sont obtenus à partir des fichiers d'analyse. On peut ainsi vérifier le type d'acide gras et son pourcentage.

3.5.7. Activité de l'eau

L'activité de l'eau est mesurée à l'aide de l'appareil (Novasina IC-500 AW-LAB), tout en déposant un échantillon dans une capsule et en plaçant cette capsule dans l'enceinte de l'appareil.

3.6. Protocole de l'analyse organoleptique

Cette analyse consiste à mettre en évidence et décrire les propriétés organoleptiques du fromage par les organes de sens, liées à la fois au produit et à la perception qu'en ont les sujets. Suivant des qualificatifs figurés (forme, croûte, couleur, élasticité, consistance, uniformité, odeur, goût et arrière-goût) dans le panel organoleptique. Un jury de 10 personnes, tous bénévoles, a participé à cette évaluation qui s'est étalée sur 3, 30, 60 et 90 jours d'affinage du fromage. Avant d'aborder la phase d'expérimentation, le jury a été informé auparavant du sujet de recherche ainsi que des explications de différents paramètres du panel, afin d'aboutir à une très bonne évaluation. Le dépouillement des panels organoleptiques s'est basé sur une moyenne en multipliant chaque paramètre par son coefficient. De même, un pourcentage a été calculé pour indiquer la tendance des membres du jury vis-à-vis de chaque paramètre.

4. ANALYSES STATISTIQUES

Le traitement des données et la présentation sous forme de tableaux ou figures sont réalisés sur le programme EXCEL 2007 alors que les différences significatives ($P < 0.05$) ont été établies sur le programme SPSS version 11,0.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

A- Etude microbiologique et physicochimique du lait

1. ETUDE MICROBIOLOGIQUE DU LAIT

1.1. Etude de la flore mésophile totale

Le nombre de mésophiles totaux dans les divers échantillons de lait de chèvres collectés est détaillé dans le tableau 4.

Tableau 4. Répartition des taux de mésophiles totaux dans le lait

Mode d'élevage	Altitude	Race	N° éch.	P1x10 ³	P2x10 ³	P3x10 ³	Moyenne x10 ³
Intensif	Basse	Alpine	1;2;3	100 ^{aA}	150 ^{aA}	2 ^{aB}	84 ^{aA}
		Sanen	4;5;6	164 ^{bA}	200 ^{aA}	7 ^{aB}	124 ^{aA}
		Chami	7;8;9	300 ^{bA}	300 ^{bA}	10 ^{aB}	203 ^{bA}
		Baladi	10;11;12	100 ^{aA}	140 ^{aA}	41 ^{aB}	94 ^{aA}
	Moyenne	Alpine	13;14;15	46 ^{aA}	60 ^{aB}	50 ^{aA}	52 ^{aA}
		Sanen	16;17;18	2 ^{aA}	9 ^{aA}	21 ^{aA}	11 ^{aA}

	Chami	19;20;21	2 ^{aA}	10 ^{aA}	100 ^{aB}	37 ^{aA}
	Baladi	22;23;24	150 ^{aB}	100 ^{aA}	80 ^{aA}	110 ^{aA}
Haute	Alpine	25;26;27	65 ^{aA}	70 ^{aA}	12 ^{aB}	49 ^{aA}
	Sanen	28;29;30	75 ^{aA}	150 ^{aB}	56 ^{aA}	94 ^{aA}
	Chami	31;32;33	63 ^{aB}	18 ^{aA}	3 ^{aA}	28 ^{aA}
	Baladi	34;35;36	50 ^{aA}	26 ^{aB}	50 ^{Aa}	42 ^{aA}
Basse	Chami	37;38;39	6 ^{aA}	100 ^{aB}	43 ^{aA}	50 ^{aA}
	Baladi	40;41;42	10 ^{aA}	20 ^{aA}	46 ^{Ab}	25 ^{aA}
Moyenne	Chami	43;44;45	5 ^{aB}	10 ^{aB}	100 ^{aB}	38 ^{aA}
	Baladi	46;47;48	5 ^{aA}	9 ^{aA}	10 ^{Aa}	8 ^{aA}
Haute	Chami	49;50;51	300 ^{bA}	300 ^{bA}	500 ^{bA}	367 ^{bA}
	Baladi	52;53;54	80 ^{aA}	100 ^{aA}	100 ^{aA}	93 ^{aA}
Bekaa	Chami	55;56;57	70 ^{aA}	300 ^{bB}	80 ^{aA}	150 ^{aA}
	Baladi	58;59;60	54 ^{aA}	300 ^{bA}	12 ^{aB}	122 ^{aA}
	Moyenne x10 ³		75 ^{aA}	110 ^{aA}	61 ^{aA}	82 ^{aA}

P1: début de lactation, P2: pic de lactation, P3: fin de lactation

ab: Différences significatives entre les lignes (p<0.05) dans chaque prise

AB: Différences significatives entre les colonnes (p<0.05) dans chaque échantillon

Le tableau 4 montre que le lait de chèvre le plus contaminé est celui produit par des chèvres de la race Chami élevées en élevage extensif en haute altitude avec une moyenne de 367 000 germes/mL de lait, en élevage intensif en basse altitude, du début jusqu'au pic de la lactation, 300 000 germes/mL de lait et en élevage extensif à la Békaa durant les mois de mai et de juin (pic de la lactation) où on a une contamination de 300 000 germes/mL de lait

En se référant aux normes recommandées par le « *Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, Direction générale de l'alimentation, sous direction de l'hygiène alimentaire et le Centre d'écopathologie animale en France* » relative à la qualité bactériologique du lait cru de chèvre, on note trois catégories de lait selon leur qualité bactériologique (Dumoulin *et al.*, 1993).

- lait de chèvre de mauvaise qualité microbiologique: plus de 300 000 germes/mL de lait
- lait de chèvre de qualité microbiologique moyenne: entre 100 000 et 300 000 germes/mL de lait
- lait de chèvre de très bonne qualité microbiologique moins de 100 000 germes/mL de lait

La moyenne générale de contamination du lait de chèvre produit au Liban est de 82 000 germes/mL de lait ; il est considéré de bonne qualité microbiologique. Le meilleur lait, contenant en moyenne 8 000 mésophiles totaux/mL, est celui produit par des chèvres de la race locale dite Baladi, élevée en extensif dans les régions de moyenne altitude. Ceci

est dû à l'adaptation de cette race à la région montagneuse et à sa tolérance aux conditions climatiques rigoureuses.

1.1.1. Taux de mésophiles totaux en fonction de l'élevage, de la race, de l'altitude et de leur interaction

Le taux de mésophiles totaux en fonction de l'élevage, de la race et de l'altitude et leur interaction figure dans le tableau 5.

Tableau 5. Le taux de mésophiles totaux en fonction de l'élevage, de la race et de l'altitude et leur interaction

	Elevage n=12	Altitude n=6	Race n=3	Inter (El* Al)	Inter (El*Ra)	Inter (Ra*Al)	Inter (El*Al*Ra)
P1 (Mai)	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
P2 (Juillet)	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
P3 (Octobre)	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S

P1: début de lactation, P2: pic de lactation, P3: fin de lactation, Inter: interaction, N.S: non significative, El: élevage, Al: altitude, Ra: race

Aucune différence significative entre les paramètres ainsi que leur interaction n'a été signalée. Ceci explique que le mode d'élevage, la race, et l'altitude ainsi que leur interaction n'influent pas sur le taux des mésophiles totaux dans le lait.

1.2. Taux de Staphylocoques dans le lait

Tous les échantillons de lait caprin produits au Liban, collectés et analysés se sont avérés indemnes de *staphylococcus aureus*.

Comparée à une étude faite dans trois régions productrices de fromage de l'Est de la France où 88% des échantillons de lait prélevés ont été jugés conformes aux exigences réglementaires et 12% non satisfaisants (Perrin *et al.*, 1993), cette étude montre que 100% des échantillons collectés sont indemnes de *Staphylococcus aureus*, donc le cheptel caprin au Liban est moins exposé aux mammites cliniques et subcliniques dues aux *staphylococcus aureus*.

1.2.1. Taux des *staphylococcus albus*

Le taux des *Staphylococcus albus* dans le lait est présenté dans le tableau 6.

Tableau 6. Taux de *staphylococcus albus* dans le lait caprin au Liban

Autore : Edouard Tabet

Titolo: Etudes Microbiologiques et physicochimiques des laits caprins et technologie fromagère améliorée: Cas du lait "Baladi" du Liban

Tesi di Dottorato in Scienze dei Sistemi Agrari e Forestali e delle Produzioni Alimentari
Università degli Studi di Sassari

Mode d'élevage	Altitude	Race	N° éch.	P1 x10 ³	P2 x10 ³	P3 x10 ³	Moyenne x10 ³
Intensif	Basse	Alpine	1;2;3	100 ^{bA}	150 ^{aA}	40 ^{aB}	96 ^{aA}
		Sanen	4;5;6	150 ^{bA}	250 ^{bA}	34 ^{aA}	144 ^{aA}
		Chami	7;8;9	140 ^{Ba}	230 ^{bA}	22 ^{aB}	130 ^{aA}
		Baladi	10;11;12	8 ^{bA}	30 ^{aB}	2 ^{aA}	13 ^{bA}
	Moyenne	Alpine	13;14;15	80 ^{Aa}	90 ^{aA}	32 ^{bB}	67 ^{aA}
		Sanen	16;17;18	60 ^{aA}	83 ^{aA}	31 ^{bB}	58 ^{aA}
		Chami	19;20;21	33 ^{Aa}	40 ^{aA}	20 ^{aB}	31 ^{aA}
		Baladi	22;23;24	4 ^{bA}	13 ^{aA}	6 ^{aA}	7 ^{aA}
	Haute	Alpine	25;26;27	56 ^{aA}	100 ^{aB}	32 ^{aA}	62 ^{aA}
		Sanen	28;29;30	72 ^{aA}	97 ^{aA}	9 ^{aB}	59 ^{aA}
		Chami	31;32;33	60 ^{aA}	36 ^{aA}	1 ^{aB}	32 ^{aA}
		Baladi	34;35;36	4 ^{bA}	8 ^{aA}	0 ^{aA}	4 ^{aA}
Extensif	Basse	Chami	37;38;39	100 ^{bA}	100 ^{aA}	9 ^{aB}	69 ^{aA}
		Baladi	40;41;42	70 ^{aA}	100 ^{aA}	2 ^{aB}	57 ^{aA}
	Moyenne	Chami	43;44;45	3 ^{bA}	5 ^{aA}	10 ^{aB}	6 ^{aA}
		Baladi	46;47;48	0 ^{bB}	2 ^{bA}	0 ^{aB}	0.67 ^{aA}
	Haute	Chami	49;50;51	30 ^{aA}	20 ^{aA}	1 ^{aB}	17 ^{aA}
		Baladi	52;53;54	29 ^{aB}	4 ^{aB}	0 ^{aB}	11 ^{aB}
	Bekaa	Chami	55;56;57	80 ^{aA}	30 ^{aA}	1 ^{aB}	37 ^{aA}
		Baladi	58;59;60	80 ^{aB}	13 ^{aA}	1 ^{aB}	31 ^{aA}
Moyenne x10 ³				56 ^{aA}	67 ^{aA}	11 ^{aB}	45 ^{aA}

P1: début de lactation, P2: pic de lactation, P3: fin de lactation
ab: Différences significatives entre les lignes (p<0.05) dans chaque prise.
AB: Différences significatives entre les colonnes (p<0.05) dans chaque échantillon.

La présence de staphylocoques autres que staphylocoques aureus, même si moins pathogènes et dangereux pour la production fromagère, reste un signal d'un manque d'hygiène des mamelles des chèvres élevées en extensif et intensif au Liban. Le lait de la race Baladi dans l'élevage extensif, à moyenne altitude, présente le moins de défaut d'hygiène avec une moyenne de 670 staphylocoques/mL de lait.

1.2.1.1 Le taux de *Staphylococcus albus* en fonction de l'élevage, de la race, de l'altitude et leur interaction

Le taux de staphylococcus albus en fonction de l'élevage, de la race et de l'altitude et leur interaction figure dans le tableau 7.

Tableau 7. Le taux de staphylococcus albus en fonction de l'élevage, de la race et de l'altitude et leur interaction

	Elevage n=12	Altitude n=6	Race n=3	Inter (el*al)	Inter (el*ra)	Inter (ra*al)	Inter (el*al*ra)
P1 (Mai)	N.S	p<0,5	p<0,5	N.S	p<0,05	N.S	N.S
P2 (Juillet)	N.S	p<0,5	p<0,5	N.S	p<0,05	N.S	N.S
P3 (Octobre)	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S

Autore : Edouard Tabet

Titolo: Etudes Microbiologiques et physicochimiques des laits caprins et technologie fromagère améliorée: Cas du lait "Baladi" du Liban

Tesi di Dottorato in Scienze dei Sistemi Agrari e Forestali e delle Produzioni Alimentari
Università degli Studi di Sassari

P1: début de lactation, P2: pic de lactation, P3: fin de lactation, Inter: interaction, N.S: non significative, el : élevage, al : altitude, ra : race

L'étude statistique, au début et au pic de la lactation, montre des différences significatives du taux de *Staphylococcus albus* en fonction de :

- a. l'altitude
- b. la race
- c. l'interaction élevage/race

a. *Le taux de Staphylococcus albus en fonction de l'altitude.*

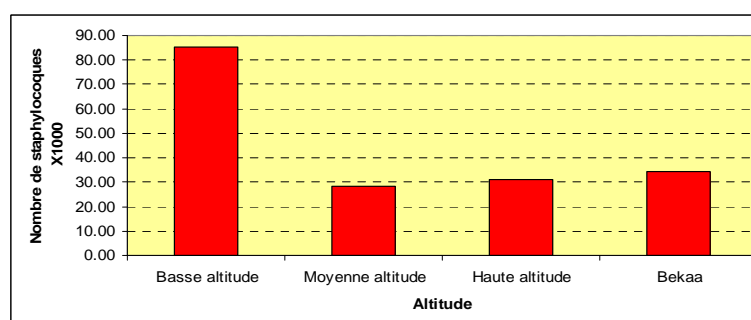


Figure 4 : Taux de *Staphylococcus albus* en fonction de l'altitude

L'étude du taux de staphylococcus albus en fonction de l'altitude (Figure 4), montre que le lait de chèvre produit est contaminé par 28 000 *Staphylococcus albus*/mL de lait en moyenne altitude et 85 000 *staphylococcus albus*/mL de lait en basse altitude. Cette différence montre que la chèvre élevée en moyenne altitude présente la plus faible probabilité d'être infectée par une mammite par rapport à celle élevée dans les autres altitudes.

b. *Le taux de staphylococcus albus en fonction de la race*

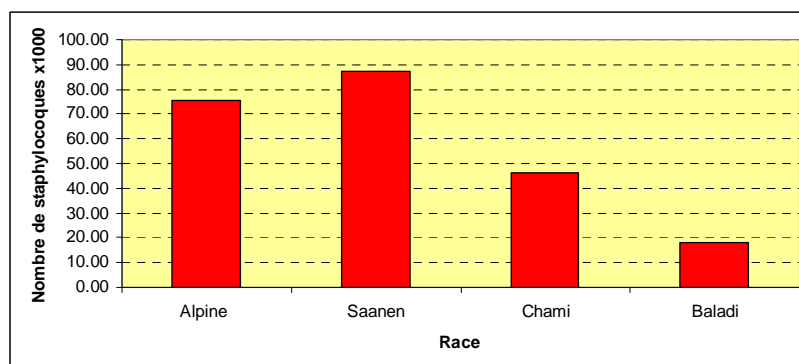
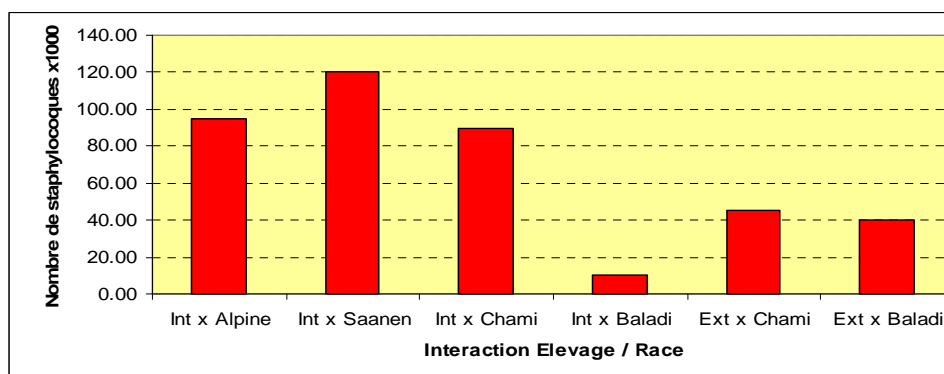


Figure 5 : Taux de *staphylococcus albus* en fonction de la race.

Le lait produit par la race caprine locale Baladi est contaminé par un taux de 19 000 *staphylococcus albus*/mL de lait; tandis que celui produit par la race Chami est contaminé par une moyenne de 45 000 *staphylococcus albus*/mL. La rusticité et l'adaptation à l'environnement pourraient être des facteurs de résistance à la contamination bactérienne, et le taux élevé des *staphylococcus albus* chez les races importées Alpine et Saanen affirme la présence d'un manque d'hygiène et de susceptibilité chez ces races, due à leur mauvaise adaptation à l'environnement libanais.

c. *Le taux de staphylococcus albus en fonction de l'interaction élevage/race*

L'interaction de l'élevage et de la race a une influence significative sur le taux de contamination par les *staphylococcus albus* (Figure 6).



Int : intensif, Ext : extensif

Figure 6 : Taux de *staphylococcus albus* en fonction de l'interaction élevage/race.

L'interaction élevage/race montre que la race Baladi dans un élevage intensif est de loin la meilleure combinaison pour une production de lait indemne de staphylocoques avec (10 000 staphylocoques/mL de lait). Par conséquent les risques de mammite sont faibles.

1.3. Taux d'*Escherichia coli* dans le lait

La présence d'*Escherichia coli* est généralement considérée comme un indicateur de mammite ou d'insuffisance hygiénique au cours de la lactation. Ce germe révèle généralement l'origine d'une contamination à partir des animaux, du trayeur et/ou du matériel.

Dans le cadre des études menées par le centre d'Ecopathologie Animale de France, sur le dénombrement d'*Escherichia coli*, près de 80% des échantillons présentent moins de

100 *E.coli*/mL de lait et 10% en contiennent plus de 1 000 germes (Perrin *et al.*, 1993). Ces résultats se rapprochent plus ou moins de ceux obtenus dans l'étude actuelle.

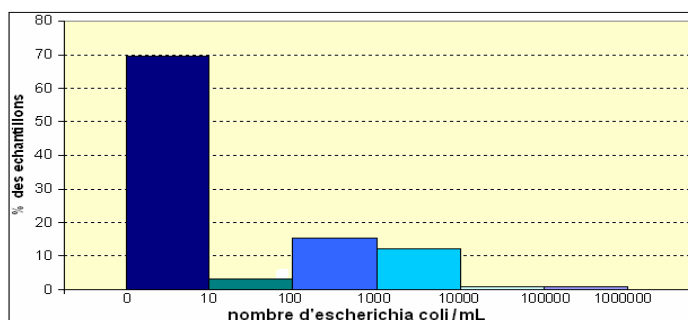


Figure 7: Taux d'*Escherichia coli* dans le lait de chèvre au Liban.

Les résultats obtenus montrent que 72% des échantillons collectés révèlent la présence de moins que 100 *Echerichia coli*/mL de lait ; mais 10% des échantillons prélevés contiennent plus de 1 000 germes/mL de lait (Figure 7).

Actuellement il n'existe pas de norme officielle pour le taux d'*Echerichia coli* dans le lait de chèvres; mais une évaluation du niveau de contamination de la matière première par *Echerichia coli* semble particulièrement être utile en filière lait cru puisqu'aucun traitement ne permet de réduire cette flore en cours de la fabrication des fromages (Dumoulin et Peretz, 1993).

Statistiquement, il est difficile d'évaluer le taux des coliformes fécaux dans le lait de cette étude, puisque les échantillons ont été pris d'une façon hygiénique. Pourtant on a remarqué l'apparition de l'*Escherichia coli* dans les cultures microbiologiques appliquées durant le pic de la lactation de la majorité des individus de l'élevage extensif (Figure 8).

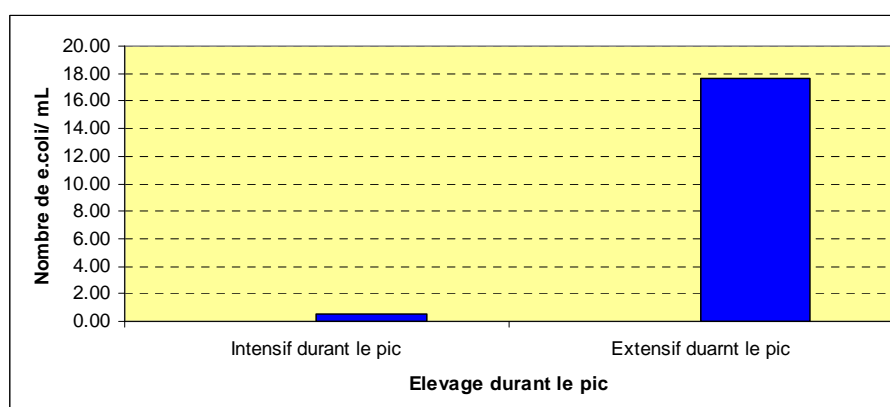


Figure 8: Taux d'*Escherichia coli* durant le pic de la lactation en fonction de l'élevage

1.4. Etude de la Brucellose dans le lait

Autore : Edouard Tabet

Titolo: Etudes Microbiologiques et physicochimiques des laits caprins et technologie fromagère améliorée: Cas du lait "Baladi" du Liban

Tesi di Dottorato in Scienze dei Sistemi Agrari e Forestali e delle Produzioni Alimentari
Università degli Studi di Sassari

Le « brucella ring test » a montré la présence de Brucellose dans 9 échantillons de lait.

Tableau 8. Les échantillons contaminés par la brucellose

Num. éch.	Elevage	Altitude	Race	Prise
7	intensif	Basse	Chami	P1
36	intensif	Haute	Baladi	P3
37	extensif	Basse	Chami	P1
38	extensif	Basse	Chami	P2
40	extensif	Basse	Baladi	P1
43	extensif	Moyenne	Chami	P1

Les élevages extensifs dans la région de basse altitude présentent le plus de risque d'infection ($p < 0,05$) par la brucella que les autres régions couvertes par cette étude (Tableau 8).

En France, les régions de Provence-Alpes-Côte d'Azur (Basse altitude), les Pyrénées et certains départements alpins concernés par la transhumance sont les plus affectés par la Brucellose (Dumoulin, Peretz, 1993). Les élevages dans les « Basses altitudes » et l'effet de « transhumance » sont des facteurs qui probablement prédominent la répartition épidémiologique de la Brucellose au Liban et en France.

Il est à noter que du fait que les brucelles sont des bactéries pathogènes chez les chèvres et contagieuses à l'homme, la réglementation sanitaire prévoit que le lait issu de cheptels infectés doit subir un traitement thermique d'assainissement (supérieur à la température de pasteurisation) avant son utilisation.

1.5. Taux de salmonelles dans le lait

Tous les échantillons analysés se sont avérés indemnes de salmonelles. Ces résultats soutiennent et confirment l'étude menée par (Hilan *et al.*, 1999) sur certaines caractéristiques phénotypiques et productives de la race caprine Baladi du Liban.

Mais il est toujours conseillé de tester le lait avant toute production puisque ces bactéries peuvent être transmises à la chèvre par un vecteur (la mouche), par l'aliment contaminé ou encore, le lait peut être infecté par des déchets fécaux contenant la salmonelle.

1.6. Taux de leucocytes dans le lait

L'évaluation du taux de leucocytes dans le lait pourrait donner une idée sur la présence d'une mammite clinique, subclinique ou chronique. Il est étudié en fonction des stades de lactation, de la race et de la présence des germes contaminants.

1.6.1. Taux de leucocytes en fonction du stade de lactation

Le taux de leucocytes en fonction des trois périodes de la lactation (début, pic et fin) est montré dans la figure 9.

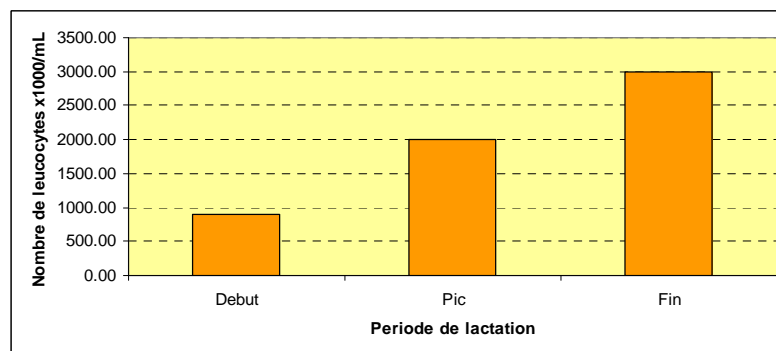
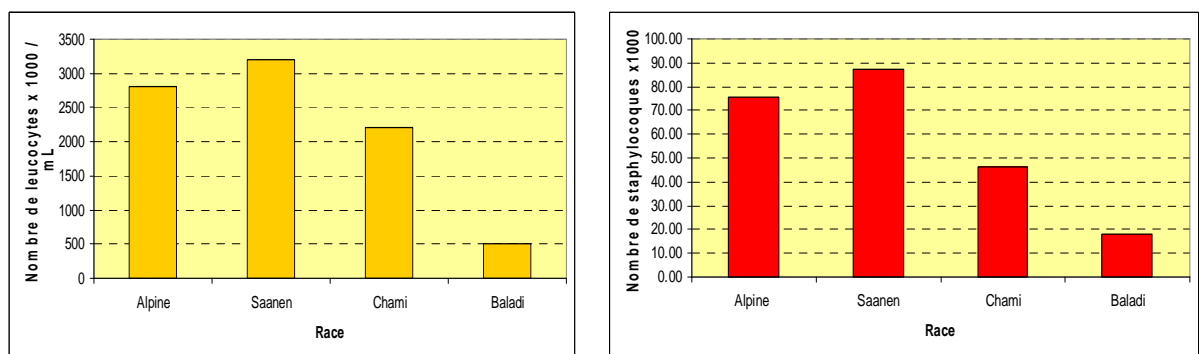


Figure 9 : Taux de leucocytes en fonction du stade de lactation

Au Liban, le taux de leucocytes dans le lait de chèvre augmente progressivement au cours de la période de lactation de 900 000 leucocytes/mL de lait (au début de la lactation), pour atteindre un maximum de 3 000 000 leucocytes/mL de lait (à la fin de la lactation) (Figure 9). Par contre, les études faites par Dulin en 1982 précisent que les leucocytes sont très élevés au début de la lactation. Le nombre des cellules diminuent rapidement puis augmentent à nouveau progressivement jusqu'au tarissement. Cette évolution se fait en sens inverse de celle de la production lactée.

1.6.2. Relation entre les taux de leucocytes et de staphylocoques en



Autore : Edouard Tabet

Titolo: Etudes Microbiologiques et physicochimiques des laits caprins et technologie fromagère améliorée: Cas du lait "Baladi" du Liban

Tesi di Dottorato in Scienze dei Sistemi Agrari e Forestali e delle Produzioni Alimentari
Università degli Studi di Sassari

fonction de la race

Figure 10 : Taux de leucocytes en fonction de la race

Figure 11 : Taux de staphylocoque en fonction de la race

Chez les races améliorées Alpine et Saanen le nombre des leucocytes est respectivement $2\ 800 \times 10^3$ leucocytes/mL de lait et $3\ 200 \times 10^3$ leucocytes/mL de lait. Il est supérieur à celui déterminé chez les races traditionnelles Chami et Baladi $2\ 200 \times 10^3$ leucocytes /mL et 500×10^3 leucocytes/mL de lait respectivement (Figure 10).

De même, le taux de staphylocoques chez les races améliorées Alpine et Saanen est respectivement 78×10^3 et 89×10^3 staphylocoques/mL de lait. Il est supérieur aux taux évalués chez les races traditionnelles Chami et Baladi 48×10^3 et 19×10^3 staphylocoques/mL de lait respectivement (Figure 11).

Il paraît clair que le taux de leucocytes est proportionnel à celui des staphylocoques et que le faible taux de leucocytes dans le lait de la race Baladi est une conséquence de la rusticité de cette race.

2. ETUDE PHYSICOCHIMIQUE DU LAIT

Le lait est un édifice physicochimique extrêmement complexe qui contient des trésors de richesses nutritionnelles ; celles-ci sont constituées principalement de quatre nutriments (Agabriel *et al.*, 2001): les protéines, les glucides, les lipides et les sels minéraux.

2.1. Taux de protéine

Le taux de protéine est une composante du lait qui varie selon trois grandes catégories de facteurs: génétiques (race), physiologiques (lactation) et alimentaires (mode d'élevage) (Rémond *et al.*, 1998). Nous les avons étudiés dans les paragraphes suivants:

2.1.1. Effet de la race sur le taux de protéine

La variation du taux de protéine en fonction de la race est présentée dans la figure 12.

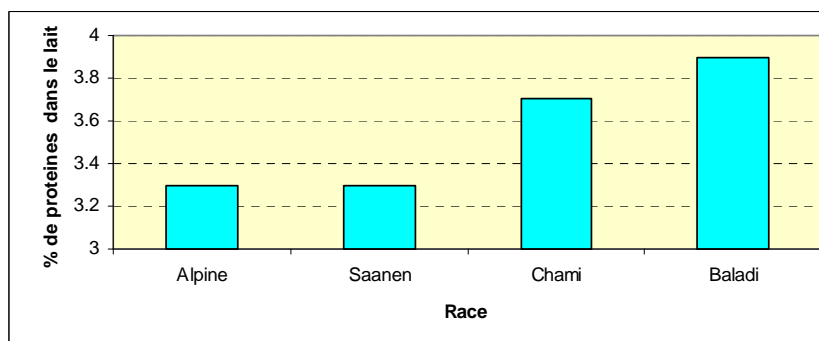


Figure 12 : Taux de protéine en fonction de la race

Le taux de protéine chez les races « Alpine et Saanen » est de 3,3%. Il est considéré comme le seuil acceptable chez les races performantes selon Mathieu, (1998) et selon St Gelais *et al.*, (2000). Chez la race Chami et Baladi le taux de protéine est supérieur ; il est respectivement 3,7% - 3,9% (Figure 12).

En comparant ces résultats avec ceux de St Gelais *et al.*, (2000), dans l'étude intitulée « Composition du lait de chèvre et aptitude à la transformation », le taux de protéine du lait des races Alpines et Saanen élevées au Liban, est le même que celui de ces races élevées au Canada. Par ailleurs, le meilleur taux de protéine mentionné dans l'étude de St Gelais *et al.*, (2000), est celui de la chèvre Nubienne 4,2% ; il est supérieur de 0,3% au taux relevé dans cette étude (celui de la race Baladi).

2.1.2. Effet de la période de lactation sur le taux de protéine

Le taux de protéine présente une variation en fonction de la période de lactation.

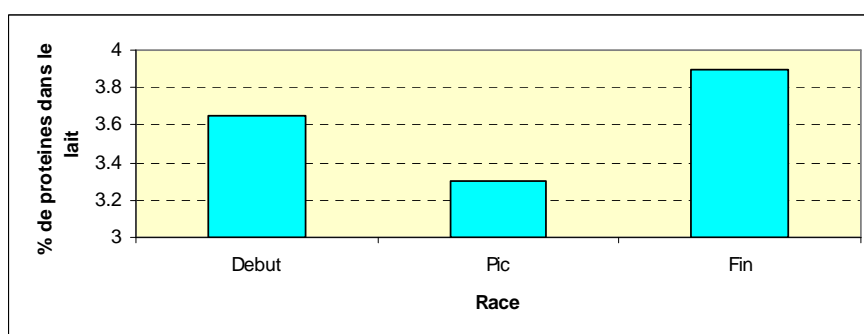


Figure 13: Taux de protéine en fonction de la période de lactation

Le taux de protéine du lait caprin au Liban est inversement proportionnel au volume du lait produit durant la période de lactation. Il atteint son minimum durant le pic

de la lactation 3,3%, alors qu'il est de 3,9% à la fin de la lactation (Figure 13). Il est supérieur de 0,2% de celui relevé au Canada par St Gelais *et al.*, en 2000.

2.1.3. Effet du mode d'élevage et de l'altitude sur le taux de protéine

Le mode d'élevage et l'altitude influent fortement sur le taux de protéine du lait.

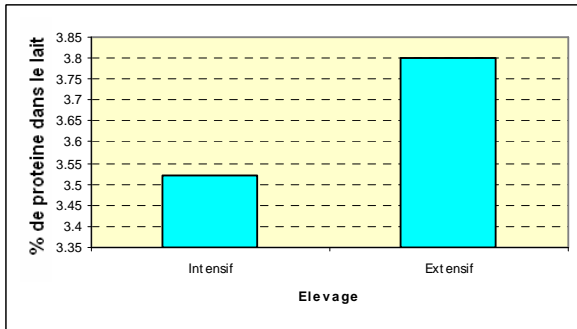


Figure 14: Le taux de protéine en fonction de l'élevage.

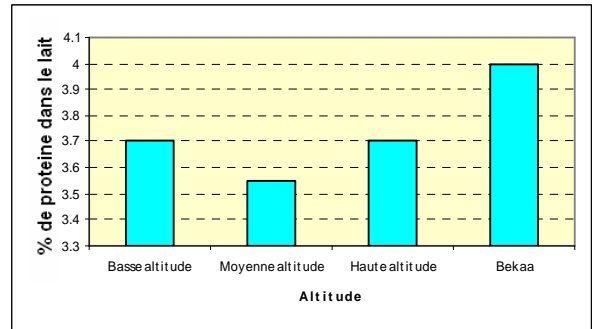


Figure 15: Le taux de protéine en fonction de l'altitude

Dans les systèmes intensifs et extensifs, le taux de protéine du lait au Liban est supérieur au seuil international avec un taux de 3.3% (Hilan *et al.*, 1999). Il est supérieur dans l'élevage extensif 3,8% que dans l'élevage intensif 3,52% (Figure 14).

A la Békaa, les chèvres d'élevage extensif produisent un lait de forte concentration en protéines 4%, tandis que dans l'élevage extensif en moyenne altitude le taux de protéine du lait n'est que de 3,55% (Figure 15). Ces concentrations varient certainement sous l'effet des facteurs alimentaires et climatiques (Coulon *et al.*, 1995).

2.2. Taux de matière grasse

Des facteurs intrinsèques (race, niveau de production, stade de lactation) et des facteurs extrinsèques (saison, température, techniques d'alimentation) peuvent engendrer des variations du taux butyreux (Dumoulin *et al.*, 1993).

2.2.1. Effet de la race sur le taux de la matière grasse

Il existe de grands écarts dans la composition du lait d'une race à une autre, et surtout dans le taux de matière grasse.

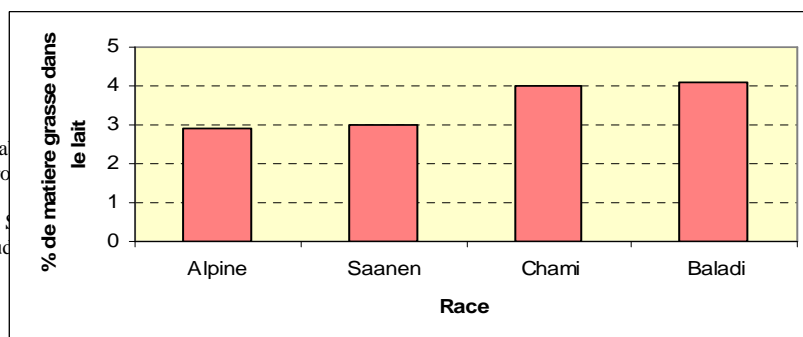


Figure 16 : Taux de matière grasse en fonction de la race

Le meilleur taux de matière grasse se trouve au Liban chez la race Baladi avec une moyenne de 4,1% suivi par la race Chami avec 4% de matière grasse. Les races Alpines et Saanen ne présentent qu'un taux de 3%, qui est relativement moins satisfaisant (Figure 16).

La matière grasse des chèvres Alpines et Saanen élevées au Liban présente un taux amélioré de 0,2 % par rapport à celle produites par ces mêmes chèvres au Canada. Mais, la race Baladi, présente un taux de matière grasse 4,1% supérieur à celui de la meilleure race au Canada (la Nubienne) qui ne fait que 3,9% de matière grasse (St Gelais *et al.*, 2000).

2.2.2. Effet du stade de la lactation sur le taux de la matière grasse

L'effet de la période de la lactation sur la matière grasse est évalué dans la figure 17 ci-dessous.

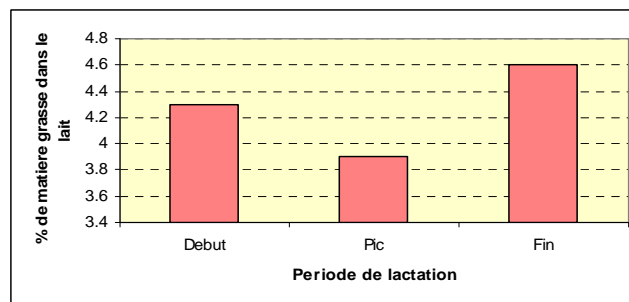


Figure 17 : Taux de matière grasse en fonction de la période de lactation

Au Liban le taux de la matière grasse du lait caprin est de 4,1 %, ce qui est élevé par rapport aux taux relevés en Europe qui n'est que de 4% (Hilan *et al.*, 1999), et celui relevé au Canada 3,05% (St Gelais *et al.*, 2000). Durant le pic de la lactation, le taux de la matière grasse est de 3,85%. Il atteint un maximum de 4,6% à la fin de la période de la lactation. Cette teneur en matière grasse évolue inversement à la production de la quantité

de lait (Figure 17). Elle est maximale au cours de la 1^{ère} semaine de la lactation, et devient minimale durant les 2^{ème} et 3^{ème} mois de la lactation ; elle s'accroît progressivement en fin de la lactation. Cette progression est due à l'avancement du stade de gestation qui influe sur la persistance de la production laitière (Coulon *et al.*, 1991).

2.2.3. Effet du mode d'élevage et de l'altitude sur le taux de la matière grasse

L'influence de l'élevage et de l'altitude sur la production de la matière grasse est présentée dans les histogrammes suivants:

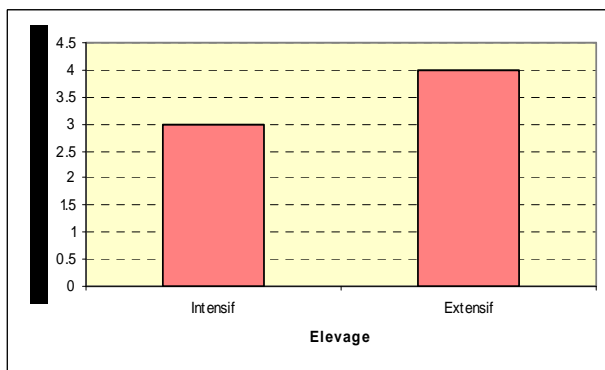


Figure 18 : Taux de matière grasse en fonction de l'élevage

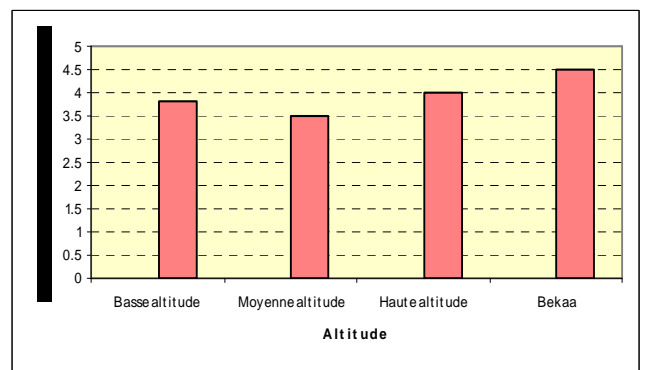


Figure 19 : Taux de matière grasse en fonction de l'altitude

Le taux de matière grasse dans l'élevage extensif, étant de 4%, s'est avéré supérieur de 1% à celui produit dans l'élevage intensif 3% (Figure 18). De même en analysant ce taux en fonction de l'altitude, on remarque une variation entre les différentes régions, avec un taux de 4,5% dans la région de la Békaa (Figure 19). Cette variation est due à l'alimentation qui influe sur le taux butyreux essentiellement par l'intermédiaire des modifications des synthèses d'acides gras volatils dans le rumen, précurseurs de la lipogenèse mammaire (Labarre, 1994).

2.3. Profil des acides gras

Le profil des acides gras relevé sur les échantillons de lait collecté a été :

- Acides gras saturés: C4, C6, C8, C10, C12, C14, C16, C18
- Acides gras insaturés: C18:1, C18:2, C18:3

Les résultats montrent que le lait de chèvre au Liban est surtout riche en acide palmitique (C16) 28%, acide oléique (C18:1) 24,38%, acide butyrique (C4) 6,59%, acide myristique (C14) 9,42%, acide stéarique (C18) 8,27% et acide caprique (C10) 8,13%.

2.3.1. Effet de la race sur le profil des acides gras

Les taux des acides gras dans le lait des races caprines élevées au Liban figurent dans le tableau 9 ci-dessous.

Tableau 9. Profil des acides gras en fonction des races élevées au Liban (en % de matière grasse)

Acide gras		Alpine	Saanen	Chami	Baladi
Acide butyrique	C4	7,28	5,18	7,054	6,88
Acide caproïque	C6	2,32	2,05	2,436	2,476
Acide caprylique	C8	2,35	2,03	2,452	2,438
Acide caprique	C10	9,2	8,01	7,902	7,408
Acide Laurique	C12	4,3	3,6	3,498	3,036
Acide myristique	C14	10,53	8,73	9,192	9,256
Acide palmitique	C16	25,22	29,79	28,642	28,682
Acide stéarique	C18	7,27	7,29	8,814	9,742
Acide oléique	C18'	25,22	25,1	24,438	22,772
Acide linoléique	C18''	2,88	2,9	3,082	2,98
Acide linoléique	C18'''	0,47	0,58	0,8	0,784

La race Alpine élevée au Liban, présente le meilleur taux d'acide butyrique (C4) 7,28%, d'acide caprique (C10) 9,2% et d'acide oléique (C18-1) 26,22%. La race Saanen n'est meilleure que par l'acide palmitique (C16) 28,79%. La race Chami présente une supériorité au niveau de l'acide caprylique (C8) 2,45% et linoléique (C18-2) 3,08%. Le lait de la race locale est le plus riche en acide caproïque (C6) 2,47%, acide stéarique (C18) 9,74%, et en acide linoléique (C18) 3%.

En ce qui concerne le goût et l'arôme, les chèvres Alpine et Baladi présentent des taux relativement élevés en acides gras aromatiques: acide caproïque C6, acide caprylique C8, acide caprique C10 par rapport aux autres races concernées dans cette étude.

Il est à noter que le profil des acides gras dans le lait des races Alpine et Saanen élevées au Liban est meilleur que celui de ces mêmes races élevées au Canada (St Gelais *et al.*, 2000) dans une étude intitulée : «Composition du lait de chèvre et aptitude à la transformation » avec un taux supérieur de 1% des acides : butyrique (C4) 6,3%, caprique (C10) 8%, palmitique (C16) 27,3% et oléique (C18-1) 24,1%.

2.3.2. Effet de l'élevage sur le profil des acides gras

Le profil des acides gras en fonction du mode d'élevage est présenté dans la figure 20 ci-dessous.

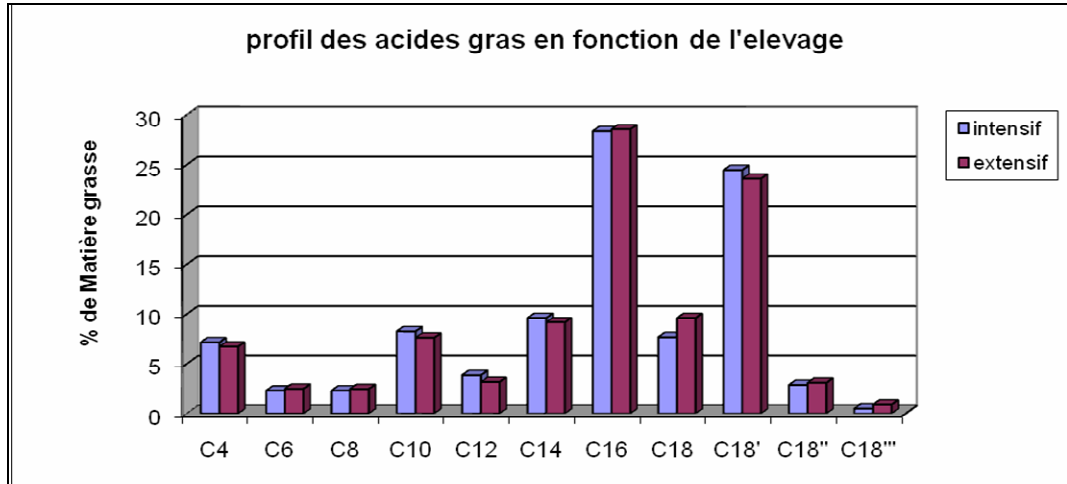


Figure 20 : Profil des acides gras en fonction du mode d'élevage

Une faible augmentation au niveau des acides gras (C4, C10, C12) dans le lait produit dans l'élevage intensif est remarquée. Mais la différence n'est pas significative au niveau des deux élevages en ce qui concerne le goût et l'arôme (C6, C8, C10).

2.3.3. Effet de l'altitude sur le profil des acides gras

Le profil des acides gras en fonction de l'altitude est présenté dans la figure 21 ci-dessous.

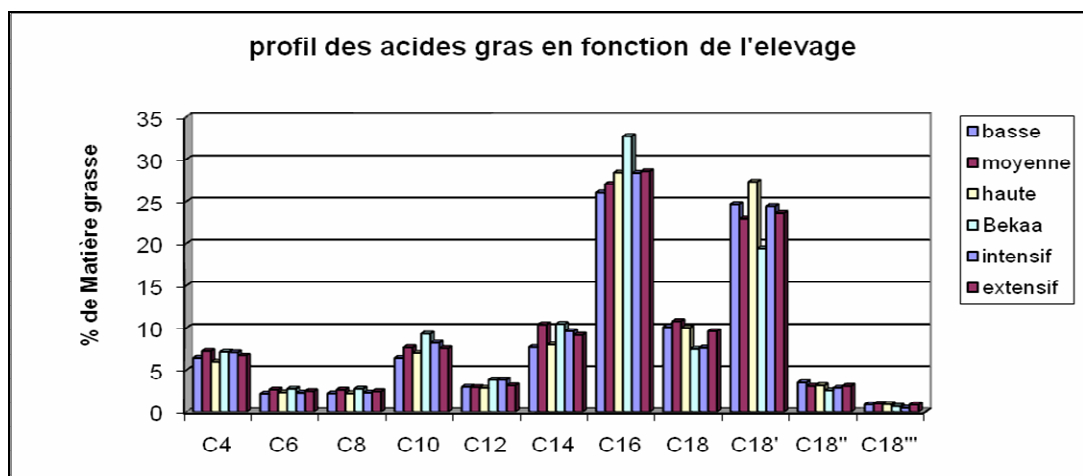
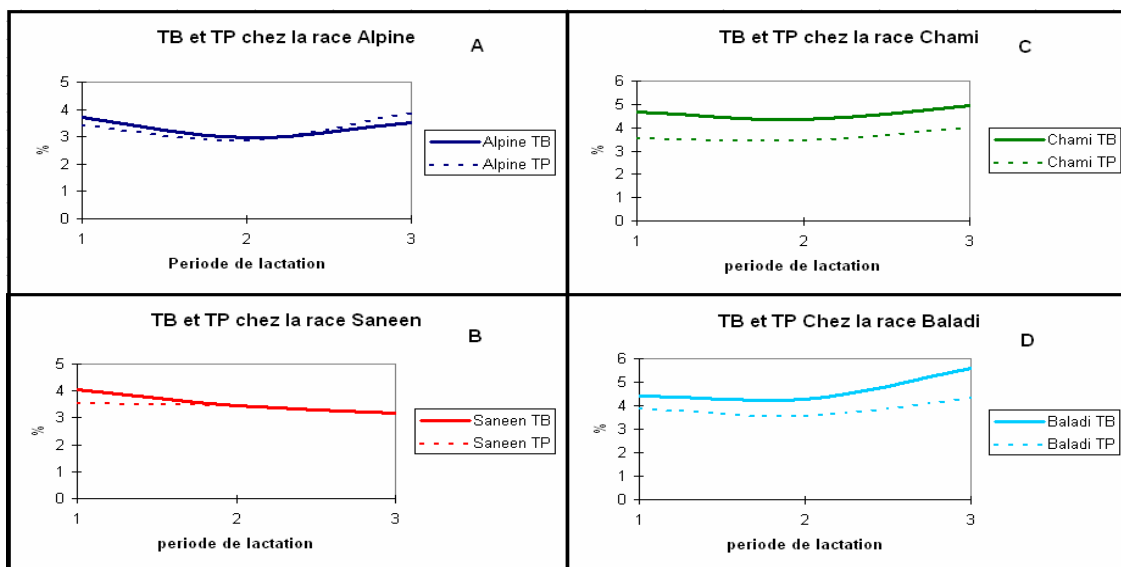


Figure 21 : Profil des acides gras en fonction de l'altitude.

L'altitude moyenne au Liban offre un lait dont la qualité gustative et aromatique est supérieure à celui produit dans les autres altitudes, avec des taux supérieurs en C4 6%, C6 3% et C8 2,56%.

2.4. Inversion des taux protéiques et butyriques

Dans cette partie, les causes et les effets de l'inversion des taux protéiques TP et butyriques TB dans le lait caprin au Liban sont analysés



A: TB et TP chez la race Alpine, B: TB et TP chez la race Saanen, C: TB et TP chez la race Chami, D: TB et TP chez la race Baladi

Figure 22 : Inversion des taux protéiques et butyriques chez les différentes races.

Les résultats statistiques montrent une inversion claire des taux butyreux et protéiques dans le lait produit par les races Alpine et Saanen au Liban. Chez la race Alpine on remarque que le taux butyrique à la fin de la lactation est de 3,2%, et a diminué de 0,5% par rapport à celui du début de la saison de la lactation 3,8%. De même chez la race Saanen, le taux butyrique diminue au cours de la saison de la lactation de 4% à 3% à la fin de la lactation.

Tandis que, dans le lait produit par les races Baladi et Chami, cette inversion n'existe pas, et leur taux butyrique à la fin de la saison de la lactation est respectivement 5 et 5,9%. Ce taux est supérieur à celui du début de cette période qui est respectivement 4,9 et 4,2% (Figure 22).

Vu que les chèvres Alpines et Saanen présentent des qualités génétiques importantes et un bon état physiologique, cette inversion n'est due qu'au manque

d'adaptation de ces races importées à l'environnement libanais (saison, température, technique d'élevage au Liban...).

2.5. Taux de lactose

Les facteurs intrinsèques (race, niveau de production, stade de lactation) et les facteurs extrinsèques (saison, température, techniques d'alimentation) engendrent des variations du taux des glucides dans le lait de chèvre (St Gelais, 2000).

2.5.1. Effet de la race sur le taux de lactose

Le taux de lactose en fonction de la race au Liban est présenté dans l'histogramme ci-dessous. Figure 23.

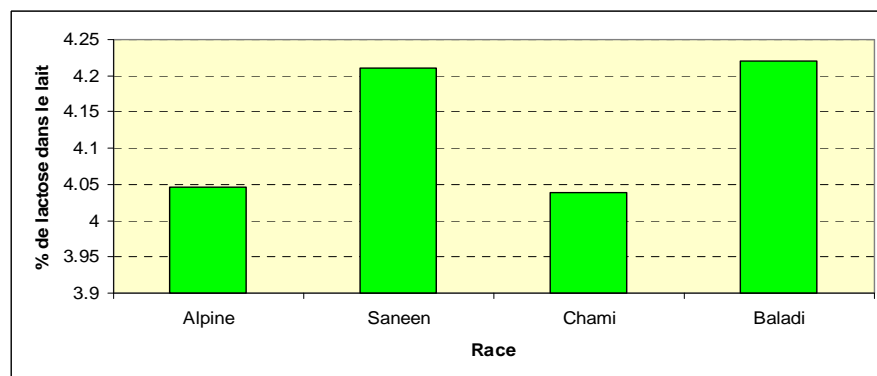


Figure 23 : Taux de lactose en fonction de la race.

Le lait de la race locale Baladi présente le meilleur taux de lactose 4,22%, suivi par celui de la race Saanen 4,21%. Les autres races présentent un taux de lactose acceptable, Alpine 4,05% et Chami 4,04% (Figure 23). Les études menées par St Gelais (2000) affirment que les différences des taux de lactose sont minimales quelle que soit la race ; il y a suffisamment de lactose dans le lait pour permettre aux bactéries lactiques de produire de l'acide lactique lors de la transformation des produits laitiers fermentés.

2.5.2. Effet de la période de lactation sur le taux de lactose

L'effet de la période de lactation sur le taux de lactose est présenté dans la figure 24.

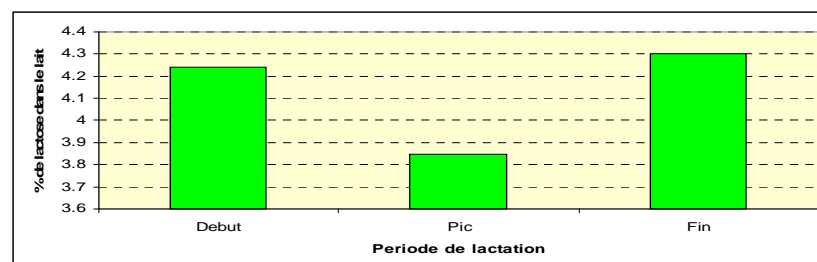


Figure 24 : Taux de lactose en fonction de la période de lactation.

Au Liban le taux de lactose atteint 3,85% durant le pic de la lactation. Ce taux est inférieur à la norme recommandée 4%. Mais la moyenne générale de ce taux durant toute la période de lactation est de 4% ce qui est conforme à la norme.

Selon St Gelais (2000), au Canada, le taux de lactose ne varie pas au cours de la saison, il est maintenu à 4,4%. Cette différence peut être due à l'apport en glucides ingérés dans la ration des chèvres au Canada.

2.5.3. Effet du mode d'élevage et de l'altitude sur le taux de lactose

L'interaction du mode d'élevage et de l'altitude sur le taux de lactose dans le lait figure dans les deux histogrammes ci-dessous (Figures 25 et 26).

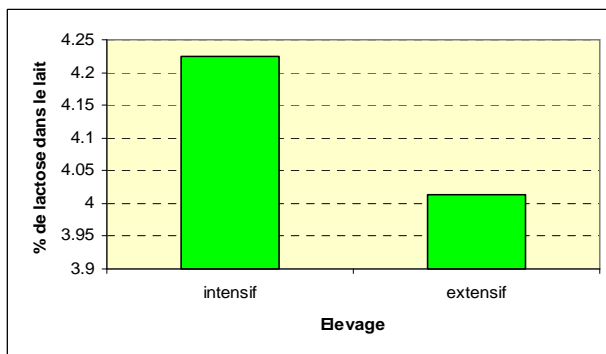


Figure 25 : Taux de lactose en fonction de l'élevage

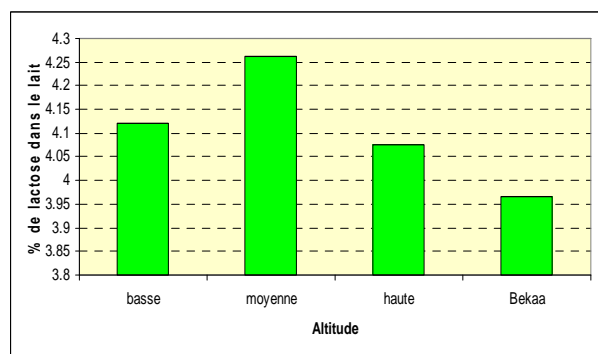


Figure 26 : Taux de lactose en fonction de l'altitude

Le lait dans l'élevage intensif présente un taux glucidique de 4,2% supérieur à celui de l'élevage extensif 3,02%, et ceci est dû à l'alimentation rationnelle dans l'élevage intensif qui consiste à un apport de certains constituants fermentescibles en acide propionique qui se transforme en glucose dans le foie, pour ensuite induire à la formation du lactose par les cellules des acini. Et en analysant le facteur altitude, on remarque que la moyenne altitude est la meilleure produisant un taux de lactose de 4,26%, ceci est probablement dû à la richesse et à la biodiversité de la flore dans cette altitude.

2.6. Teneurs en Calcium et en Phosphore

Les teneurs en Phosphore P et en Calcium Ca du lait ont un impact important sur le pouvoir tampon.

2.6.1. Effet de la race sur le taux de calcium et du phosphore

L'effet de la race sur le taux de calcium et de phosphore est présenté dans la figure 27.

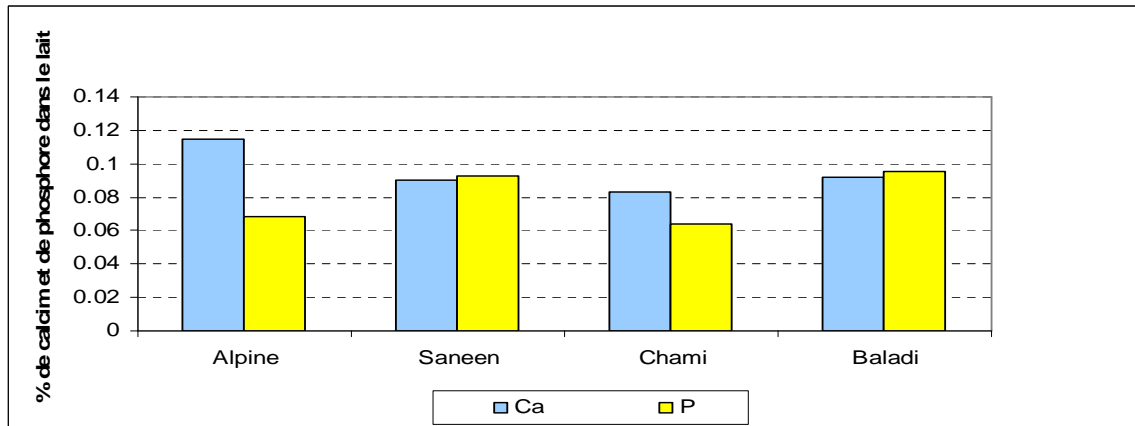


Figure 27 : Taux de calcium et de phosphore en fonction de la race.

En effet, au Liban, le taux de calcium dans le lait caprin est 0,9% et celui du phosphore est 0,07%. Le meilleur taux de calcium est relevé chez la race Alpine 0,11%, et le meilleur taux de phosphore s'est trouvé chez la race Baladi avec 0,09% de phosphore (Figure 27).

Ces résultats sont inférieurs à ceux retrouvés chez St Gelais, (2000) et chez Hilan, (1999) qui précisent que le taux de calcium dans le lait d'une chèvre performante est 0,135% et le taux de phosphore est 0,1%.

2.6.2. Effet de la période de lactation sur le taux de calcium et de phosphore

L'effet de la période de lactation sur le taux de calcium et de phosphore est présenté dans la figure 28.

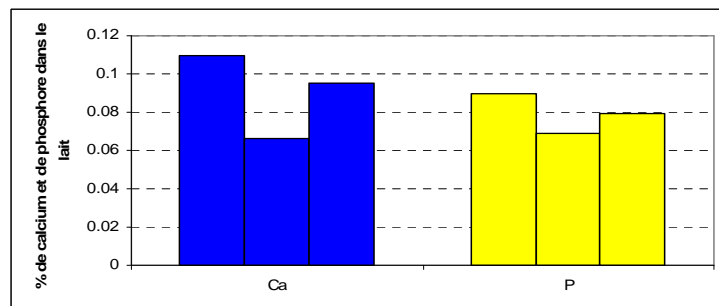


Figure 28 : Taux de calcium et de phosphore en fonction de la période de lactation.

Dans cette étude, le profil des taux de calcium et de phosphore dans le lait caprin en fonction de la période de lactation semble logique, puisqu'on remarque une chute de ces taux lors du pic de la lactation. La moyenne de ces taux est 0,086% de calcium et 0,070% de phosphore. Ces taux sont inférieurs aux données internationales (calcium 0,13%, phosphore 0,09%) St Gelais, (2000) et Hilan (1999).

2.6.3. Effet du mode d'élevage et de l'altitude sur le taux de calcium et de phosphore

L'effet du mode d'élevage et de l'altitude sur le taux de calcium et du phosphore est présenté dans les figures 29 et 30.

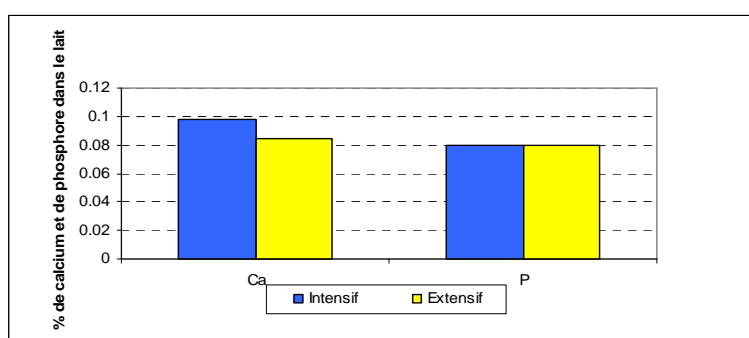


Figure 29 : Taux de variation de calcium et de phosphore en fonction de l'élevage.

Concernant le mode d'élevage, il n'y a pas de différence significative au niveau du Ca et du P, mais on remarque une légère supériorité du taux de calcium dans l'élevage intensif, ceci est probablement dû à la supplémentation en Ca dans la ration alimentaire (Figure 29).

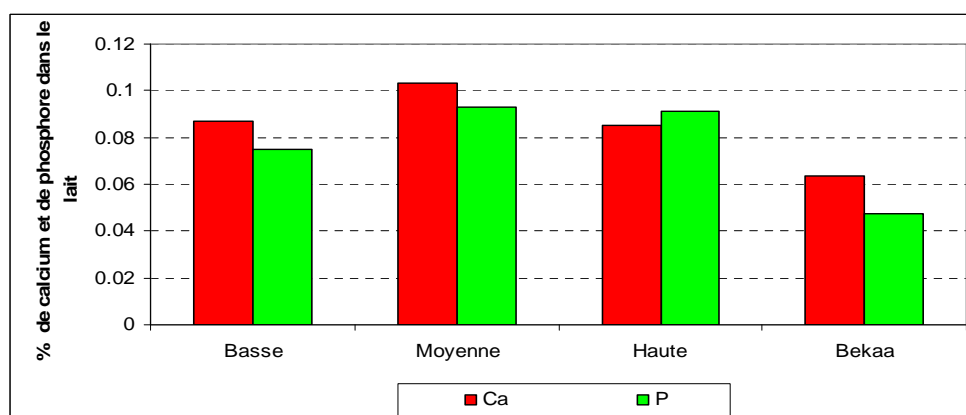


Figure 30 : Taux de calcium et de phosphore en fonction de l'altitude.

Par contre, on remarque une différence des taux de Ca et de P en fonction de l'altitude. Ils sont les plus élevés dans les élevages de moyenne altitude (Ca : 0,099% et P : 0,087%) et les plus faibles dans les élevages de la Békaa avec Ca : 0,058% et P : 0,04% (Figure 30).

2.7. Profil général de la composition du lait des races élevées au Liban (%)

La composition chimique moyenne du lait de chèvres produit par les races élevées au Liban figure dans le tableau 10 ci-dessous.

Tableau 10. Comparatif des résultats physicochimiques

Composant en %	Alpine	Saanen	Chami	Baladi
Eau	89,4	88,8	87,56	87,09
Extrait sec	10,9	11,2	12,43	12,91
Matière grasse	2,9	3	4	4,1
Extrait sec dégraissé	8	8,17	8,43	8,77
Protéine	3,3	3,29	3,7	3,9
Lactose	4,05	4,21	4,04	4,22
Matière minérale	0,68	0,70	0,69	0,69
Calcium	0,11	0,083	0,078	0,085
Phosphore	0,06	0,085	0,057	0,09

- La composition du lait de la race Alpine au Liban est la suivante :

Eau : 89,4%, Protéines: 3,3%, matière grasse: 2,9%, Lactose: 4,052%, Cendre: 0,68%

- La composition du lait de la race Saanen au Liban est la suivante :

Eau : 88,8%, Protéines: 3,29%, matière grasse: 3%, Lactose: 4,2118%, Cendre: 0,70%

- La composition du lait de la race Chami au Liban est la suivante :

Eau : 87,563%, Protéines: 3,7%, matière grasse: 4 %, Lactose: 4,04 %, Cendre: 0,69%

- La composition du lait de la race Baladi au Liban est la suivante :

Eau : 87,09%, Protéines: 3,98%, matière grasse: 4,1%, Lactose: 4,22%, Cendre:0,69%

En comparant la composition des différents laits de chèvre au Liban, on remarque que le lait de la race Baladi est le plus riche en matière grasse 4,12%, en protéine 3,98%, en lactose 4,2219, suivi par la race Chami ; et par conséquent, il est le plus pauvre en eau 87,09% par rapport aux races importées 89% (Tableau 10).

B- Etude microbiologique et physicochimique du fromage

Les résultats concernant le dénombrement des bactéries lactiques du levain, des bactéries nuisibles, de la flore lactique dans les fromages, des analyses physicochimiques et de l'évaluation sensorielle du fromage suivant la recette Pecorino Sardo affiné durant trois mois sont détaillés comme suit :

1. DENOMBREMENT DES BACTERIES LACTIQUES DU LEVAIN

Les résultats du dénombrement des bactéries lactiques dans le levain, après 48 heures d'incubation, sont les suivants :

✓ Le nombre des S.T. est de $5,4 \times 10^7$ / mL de levain.

Pour réduire à 4×10^6 , on fait le calcul suivant: $(4 \times 10^6 / 5,4 \times 10^7) \times 1000 = 74$ mL.

✓ Le nombre des L.C. est de 13×10^7 / mL de levain.

Pour réduire à 4×10^6 , on fait le calcul suivant: $(4 \times 10^6 / 13 \times 10^7) \times 1000 = 30$ mL.

✓ Le nombre des L.L. est de 3×10^6 / mL de levain.

Pour augmenter à 4×10^6 , on fait le calcul suivant: $(4 \times 10^6 / 3 \times 10^6) \times 1000 = 1333$ mL.

2. ETUDE MICROBIOLOGIQUE DU FROMAGE AFFINE DURANT TROIS MOIS

La qualité microbiologique du fromage affiné produit à partir du lait de chèvre de la race Baladi et prélevé en début, mi et fin stade de lactation, est évaluée comme suit :

2.1. Taux de la flore nuisible

Le nombre total des bactéries nuisibles dans les divers échantillons de fromage au cours de l'affinage est détaillé dans le tableau 11.

Tableau 11. Répartition des taux des bactéries nuisibles totaux dans le fromage (log cfu g⁻¹)

Transformation	Durée d'affinage (jours)	Mésophiles totaux	Coliformes totaux	Coliformes fécaux	Staphylocoques aureus
T1	0	9,4	0	0	0
	3	7,8	0	0	0
	30	6,4	0	0	0
	60	6,4	0	0	0
	90	5,3	0	0	0
T2	0	9,3	0	0	0
	3	9,1	0	0	0
	30	7	0	0	0
	60	6,8	0	0	0
	90	6,2	0	0	0
T3	0	10,3	0	0	0
	3	9,4	0	0	0
	30	7,3	0	0	0
	60	6,8	0	0	0
	90	6,8	0	0	0

T1 : 1^{ère} transformation, T2 : 2^{ème} transformation, T3 : 3^{ème} transformation

Le tableau 11 montre une absence de coliformes totaux, coliformes fécaux et staphylococcus aureus. Ceci est évidemment dû à la pasteurisation du lait avant les trois transformations (Manu *et al.*, 2001) et au bon choix de la source du lait qui a été prélevé à partir de chèvres élevées selon un système extensif en moyenne altitude. Ce choix a été basé sur les résultats obtenus à la fin de la 1^{ère} phase de notre étude. Au début de chaque transformation, le dénombrement des bactéries mésophiles est élevé Log cfu g⁻¹ 9,4 ; 9,3 et 10,3, il diminue progressivement avec la durée d'affinage pour les trois transformations pour atteindre les valeurs Log cfu g⁻¹ 5,3 ; 6,2 et 6,8 dans T1, T2 et T3 respectivement. Ce fait est une conséquence de la prolifération des bactéries lactiques, rendant le milieu de plus en plus acide, suite à la sécrétion d'acide lactique. Ces résultats sont en accord avec Psoni *et al.* (2003). De même, l'addition de deux souches Lactobacille et Lactocoque a inhibé la présence indésirable des microorganismes et a accéléré l'affinage du fromage (Martley et Crow, 1993).

2.2. Taux de la flore lactique

Le taux de la flore lactique, (*Lactobacillus casei*, *Lactococcus lactis* et *Streptococcus thermophilus*) au cours des trois transformations et pendant toute la durée d'affinage, est présenté dans les figures 31, 32 et 33.

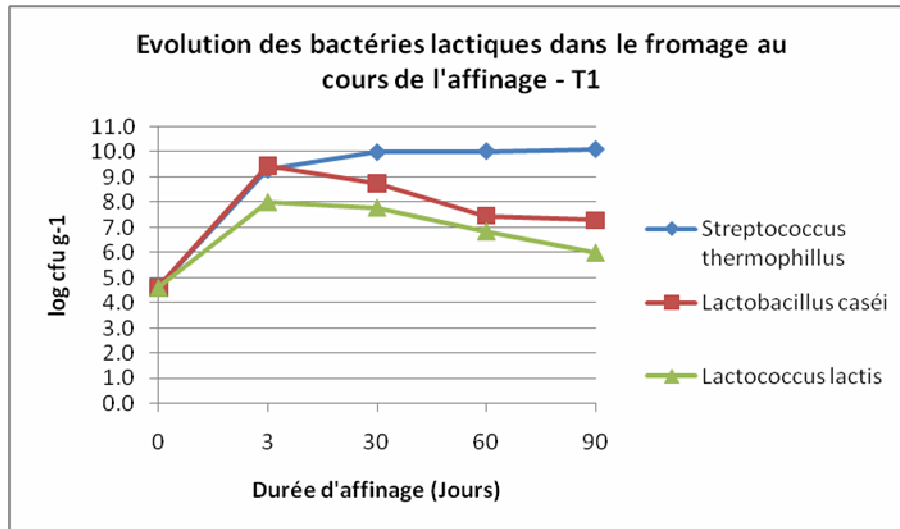


Figure 31. Evolution des bactéries lactiques dans le fromage au cours de l'affinage pendant la 1ère transformation

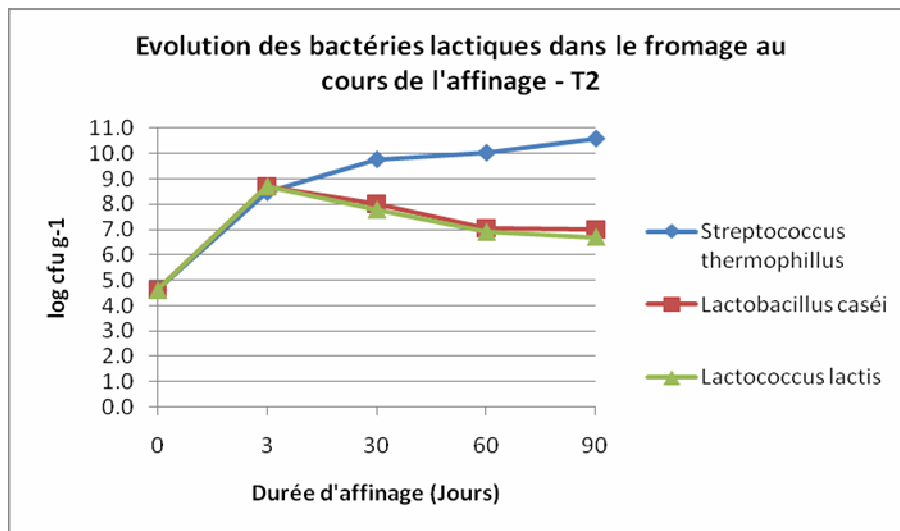


Figure 32. Evolution des bactéries lactiques dans le fromage au cours de l'affinage pendant la 2ème transformation

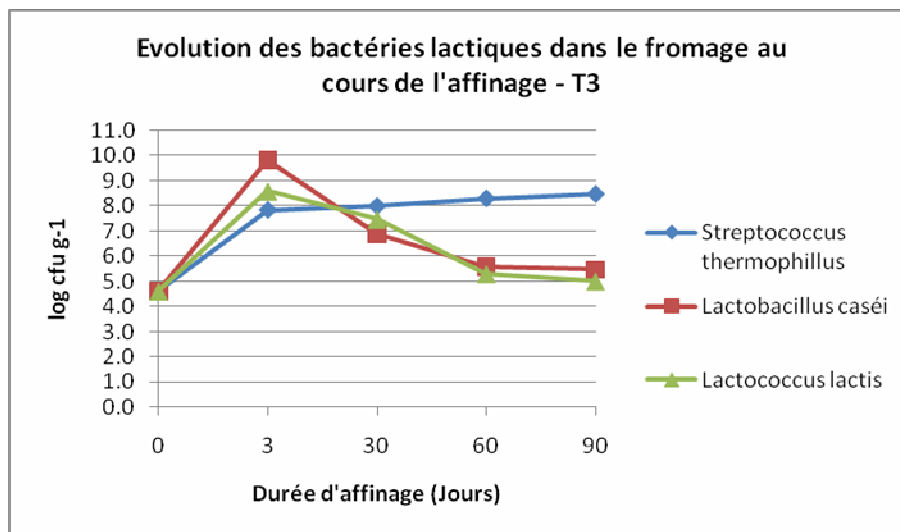


Figure 33. Evolution des bactéries lactiques dans le fromage au cours de l'affinage

pendant la 3^{ème} transformation

Au cours des trois transformations T1, T2 et T3, l'évolution des bactéries lactiques est en étroite harmonie. Le taux des bactéries lactiques augmente rapidement durant les trois premiers jours.

S.T. continue sa prolifération progressivement au cours de l'affinage et devient plus ou moins constante après deux mois pour atteindre les valeurs Log cfu g⁻¹ 10,1 ; 10,6 et 8,5 au 3^{ème} mois pour les trois transformations T1, T2 et T3 respectivement. Ces valeurs sont en accord avec Mannu *et al.* (2001) qui ont rapportés des valeurs de Log cfu g⁻¹ 8,97 après 60 jours et en contradiction avec les résultats obtenus par Madrau *et al.* (2006) dont la courbe est descendante et atteint une valeur de 0 après 90 jours. Cette contradiction est probablement due aux bactéries autochtones qui perturbent le phénomène de fermentation, vu que le lait dans leur étude n'a pas été pasteurisé. La dominance nette de S.T. au dépend de L.C. et L.L. peut éventuellement être expliquée par la sensibilité de ces dernières bactéries lactiques vis-à-vis du milieu acide et de la diminution du pH.

L.C. et L.L. atteignent leur pic au 3^{ème} jour d'affinage dans les trois transformations. L.C. diminue constamment pour atteindre les valeurs Log cfu g⁻¹ 7,3, 7 et 5,5 au cours de T1, T2 et T3 respectivement après trois mois d'affinage. De même, L.L. diminue d'une façon cohérente avec L.C. pour atteindre des valeurs Log cfu g⁻¹ 6 ; 6,7 et 5 à la fin de l'affinage.

L'évolution de l'allure de L.L. est conforme à celle obtenue par Morgan *et al.* (2002), Madrau *et al.* (2006) et Mangia *et al.* (2008) où le taux de L.L. atteint son pic après un mois d'affinage et baisse après trois mois.

Par contre, l'évolution de l'allure de L.C. est en contradiction avec les travaux de Madrau *et al.* (2006) et Mangia *et al.* (2008) où le taux augmente continuellement durant la phase de fermentation. Sa prédominance à la fin de la période de l'affinage a été rapporté par plusieurs auteurs (Centeno *et al.*, 1996 ; Bouton *et al.*, 1998 ; Pérez Elortondo *et al.*, 1998 ; Mannu *et al.*, 1999). Sa présence est d'une grande importance vu sa résistance aux contraintes de la maturité du fromage relative à la concentration élevée du sel, la faible activité de l'eau et la faible disponibilité des nutriments.

Les allures des courbes dans les graphes 31, 32 et 33 sont en cohérence avec la littérature qui affirme que l'évolution de la flore bactérienne suit en général l'allure d'une courbe caractéristique et atteint un pic après 1 à 3 jours d'affinage (Madrau *et al.*, 2005).

Au cours de la troisième transformation, le dénombrement des trois souches de bactéries lactiques (S.T., L.C. et L.L.) montre le nombre le plus bas par rapport aux autres transformations. Les valeurs sont inversement proportionnelles à celles du nombre total des bactéries qui a augmenté au cours de la même période (Tableau 11).

3. ETUDE PHYSICOCHIMIQUE DU FROMAGE AFFINE DURANT TROIS MOIS

Au cours de l'affinage du fromage, plusieurs paramètres physicochimiques ont été étudiés : pH, acidité, humidité, matière sèche, activité de l'eau, azote total, azote soluble dans l'eau, protéine, azote non caséique, azote non protéique, acide gras libre et matière grasse.

3.1. Taux de pH et d'acidité

Les taux de pH et d'acidité des trois transformations T1, T2 et T3 du fromage au cours de toute la période d'affinage sont représentés dans la figure 34.

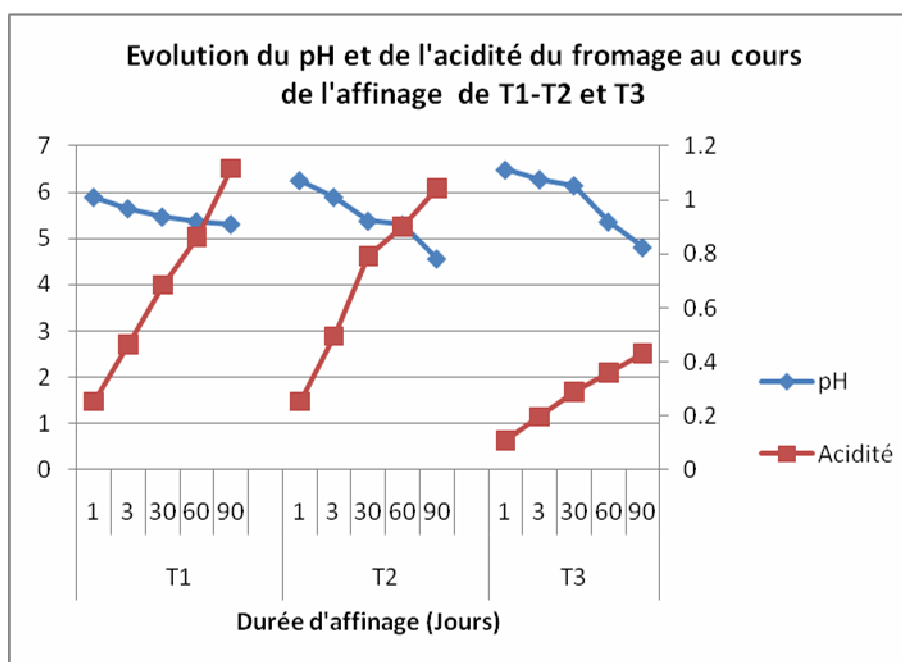


Figure 34. Evolution du pH et de l'acidité du fromage au cours de l'affinage pendant les trois transformations T1, T2 et T3

Dans les trois transformations T1, T2 et T3, le taux du pH diminue au cours de l'affinage inversement au taux d'acide lactique qui augmente. Ces deux paramètres révèlent la progression de l'acidité du fromage du début jusqu'à la fin de l'affinage.

Le taux du pH a subi une diminution de 5,9 à 5,31 dans T1, de 6,26 à 4,56 dans T2 et de 6,49 à 4,81 dans T3. Cette diminution du pH dans les trois transformations tout au long de l'affinage est comparable aux résultats de Buriti *et al.* (2005).

Mangia *et al.* (2008) ont démontré que le pH diminue les 5 premiers jours d'affinage alors qu'il augmente légèrement pour atteindre une valeur de 5,7 après 210 jours. Des résultats comparables ont été observés par Madrau *et al.* (2006). La valeur du pH la plus élevée à la fin de l'affinage 5,31 ; a été observée dans T1. Ceci est en accord avec Di Cagno *et al.* (2003) qui ont obtenu des valeurs de pH de 5,04 à la fin de l'affinage du fromage Pecorino Romano. C'est probablement dû à un meilleur niveau de protéolyse.

Par contre, l'acidité (g acide lactique 100 g⁻¹ de fromage) a subi une augmentation de 0,252 à 1,116 dans T1, de 0,252 à 1,044 dans T2 et de 0,108 à 0,432 dans T3. Une nette augmentation de l'acidité a été observée constamment au cours de toute la période d'affinage dans T1 et T2. L'augmentation de l'acidité dans T3 a été signalée également mais sans avoir la même allure. La courbe d'acidité dans le fromage au cours des trois transformations est en accord avec celle obtenue durant l'affinage du fromage Pecorino Sardo chez Madrau *et al.* (2005), où l'acidité augmente de 0,4 jusqu'à 1,8 après 210 jours. C'est un indicateur d'une fermentation réussie du fromage à la suite d'une activité métabolique de la flore lactique et par conséquent à un bon état de conservation du fromage.

3.2. Taux de l'humidité et de la matière sèche

Les taux de l'humidité et de la matière sèche des trois transformations T1, T2 et T3 du fromage au cours de toute la période d'affinage sont représentés dans la figure 35.

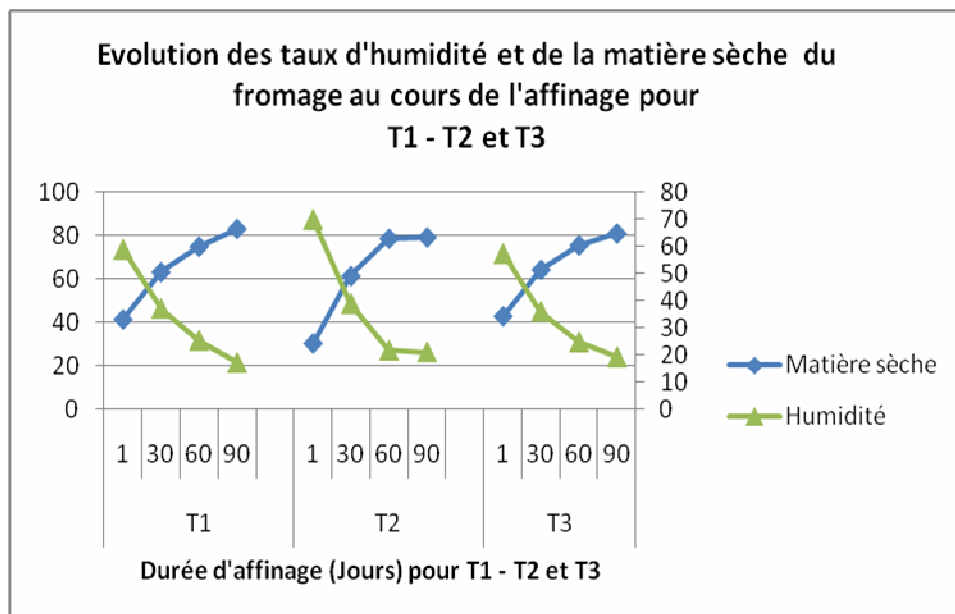


Figure 35. Evolution de l'humidité et de la matière sèche du fromage au cours de l'affinage pendant les trois transformations T1, T2 et T3

Le graphe ci-dessus montre une diminution ininterrompue de l'humidité tout au long de la période d'affinage. L'humidité signalée au 1^{er} jour d'affinage est de 58,6%, 69,6% et 57,1% dans T1, T2 et T3 respectivement. Elle diminue pour atteindre les valeurs de 17%, 20,9% et 19,1% après 90 jours d'affinage respectivement. Ce résultat est en accord avec Galistu *et al.* (1998) et Addis *et al.* (2005a). Cette diminution est due principalement au saumurage (Chamba, 1988) et à la durée d'affinage.

Parallèlement à la diminution du taux d'humidité, une augmentation est remarquée au niveau de la dureté du fromage ainsi qu'au niveau des paramètres de texture, de la consistance et de l'élasticité (Bhaskaracharya et Shah, 2001).

Les valeurs de la matière sèche obtenues après 90 jours d'affinage, 83%, 79,1% et 80,9% dans les trois transformations T1, T2 et T3 respectivement se rapprochent de celles signalées par Madrau *et al.* (2006) qui ont obtenu une valeur de 70,8% après 90 jours d'affinage et par Mangia *et al.* (2008) où leur valeur était de 76,7% après 210 jours d'affinage.

La diminution de l'humidité et par suite l'augmentation de la matière sèche sont des indicateurs de réussite de la fabrication du fromage.

3.3. Activité de l'eau

Les taux de l'activité de l'eau des trois transformations T1, T2 et T3 du fromage au cours de toute la période de l'affinage sont représentés dans la figure 36.

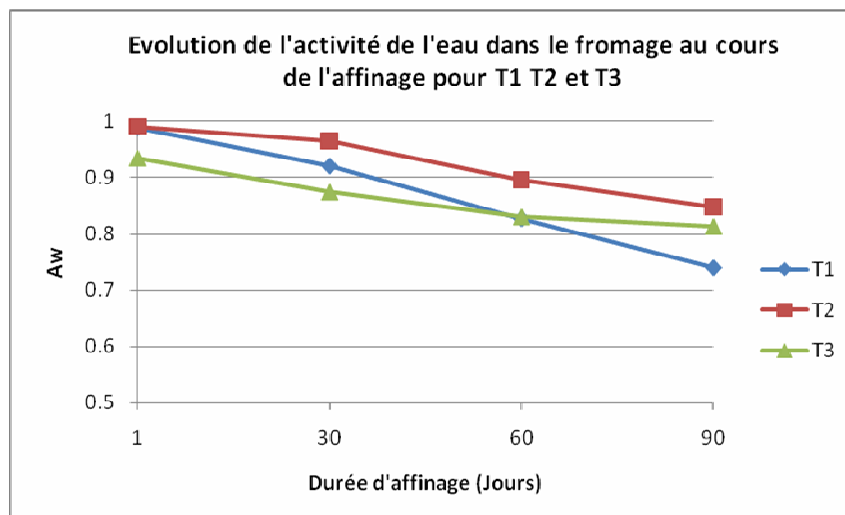


Figure 36. Evolution de l'activité de l'eau dans le fromage au cours de l'affinage pendant les trois transformations T1, T2 et T3

Les valeurs de l'activité de l'eau diminuent au cours des trois transformations. Elles sont comprises entre 0,989 et 0,74 dans T1, entre 0,991 et 0,848 dans T2 et entre 0,935 et 0,814 dans T3. Ces valeurs diminuent tout au long de l'affinage. Cette diminution est observée chez la plupart des auteurs Madrau *et al.* (2006) et Mangia *et al.* (2008). La réduction de l'activité de l'eau dans le fromage et la diminution de l'humidité sont dues à la concentration du sel et à l'augmentation de la fraction d'azote soluble dans l'eau (Prieto *et al.*, 2002).

3.4. Activité protéolytique

L'activité protéolytique au cours des trois transformations T1, T2 et T3 du fromage pendant toute la période d'affinage figure dans le tableau 12.

Tableau 12. Activité protéolytique au cours des trois transformations T1, T2 et T3 du fromage pendant toute la période d'affinage

T	Durée d'affinage (jours)	Azote total (NT)*	Azote non protéique (NNP)*	Azote soluble dans l'eau (NS)*	Azote non caséinique (NNC)*	(NNP/NT) x100**	(NS/NT) x100**
T1	1	4,04	0,152	0,219	0,168	3,762	5,443
	30	4,452	0,235	0,947	0,347	5,283	21,288
	60	6,011	0,246	1,3	0,350	4,099	21,634
	90	6,111	0,395	1,391	0,405	6,464	22,766
T2	1	3,132	0,282	0,399	0,154	9,004	12,739
	30	4,502	0,412	0,964	0,197	9,161	21,422
	60	4,947	0,614	1,012	0,376	12,412	20,473
	90	5,182	0,841	1,143	0,6791	16,240	22,069

	1	3,024	0,050	0,319	0,170	1,667	10,565
T3	30	4,031	0,112	0,616	0,366	2,790	15,296
	60	4,301	0,186	0,786	0,473	4,324	18,271
	90	4,396	0,245	0,956	0,479	5,573	21,747

T : Transformation ; NT : Azote total ; NNP : Azote non protéique ; NS : Azote soluble dans l'eau ; NNC : Azote non caséinique

* : g 100 g⁻¹ de fromage ; ** : %

3.4.1. Taux de l'azote total (NT)

Dans les trois transformations T1, T2 et T3, le taux de l'azote total NT en g 100 g⁻¹ de fromage montre un accroissement tout au long de la période d'affinage. Ce taux a subi une augmentation de 4,04 à 6,111 dans T1, de 3,13 à 5,18 dans T2 et de 3,024 à 4,396 dans T3 après 3 mois d'affinage. Cette augmentation est similaire dans les trois transformations (Tableau 12). Le taux de NT se stabilise presque entre le 2^{ème} et le 3^{ème} mois. Les valeurs de l'azote total dans les trois transformations se rapprochent de ceux

publiés par Madrau *et al.* (2005) dont les valeurs oscillent entre 3,2 et 4,3 et par Mangia *et al.* (2008) dont les valeurs varient entre 2,8 à 5.

3.4.2. Taux de l'azote non protéique (NNP)

Le tableau 10 montre l'augmentation de l'azote non protéique NNP dans les trois transformations T1, T2 et T3. Les valeurs obtenues dans T2 de 0,282 à 0,8417 g 100 g⁻¹ de fromage après 3 mois d'affinage sont comparables à celles de Mangia *et al.* (2008) qui ont rapporté des valeurs de 0,15 à 0,92 après sept mois d'affinage. Les valeurs obtenues en T1 0,152 à 0,395 et en T3 de 0,050 à 0,245 ne sont pas en accord avec la littérature. Le taux élevé de NNP en T2 indique une activité vigoureuse des bactéries lactiques (Furtado et Partridge, 1988).

3.4.3. Taux de l'azote non caséinique (NNC)

Les valeurs de l'NNC des trois transformations figurent dans le tableau 10. En fait, les valeurs de l'NNC en g 100 g⁻¹ de fromage au début de l'affinage sont bien proches, 0,185 dans T1, 0,154 dans T2 et 0,170 dans T3. Elles atteignent des valeurs de 0,405 ; 0,679 et 0,4795 dans T1, T2 et T3, respectivement après 3 mois d'affinage. La

transformation T2 montre la valeur la plus élevée 0,679 g 100 g⁻¹ de fromage ; elle est comparable au taux de l'NNP.

3.4.4. Taux de l'azote soluble dans l'eau (NS)

Dans les trois transformations T1, T2 et T3, les taux de l'azote soluble dans l'eau NS sont en augmentation (Tableau 12). Ces taux augmentent de 0,219 à 1,3912, de 0,399 à 1,1438 et de 0,319 à 0,956 g 100 g⁻¹ de fromage, dans T1, T2 et T3 respectivement après trois mois d'affinage. Ces valeurs sont proches de celles obtenues par Mangia *et al.* (2008) de 0,46 à 1,35 g 100 g⁻¹ de fromage après 7 mois d'affinage. Le taux de l'azote soluble permet de mettre en évidence les capacités protéolytiques du levain dans le fromage (Farkey *et al.*, 1995).

3.4.5. Rapport entre azote non protéique et azote total

Les valeurs de cet indice (NNP/NT) x 100 figurent dans le tableau 12. Il est en augmentation au cours des trois transformations T1, T2 et T3. Cet indice est le plus élevé dans T2, il débute à 9,004% au 1^{er} jour d'affinage pour atteindre 16,240% après 90 jours d'affinage. En revanche, dans T1 et T3, ce taux augmente de 3,762 à 6,464% et de 1,667 à 5,573% respectivement. Cette différence nette en faveur de T2 est un indicateur du développement des divers composés d'azotes, tel que les acides aminés libres. Cet indice pourrait être considéré comme indice d'affinage.

3.4.6. Rapport entre azote soluble dans l'eau et azote total

Cet indice de maturité (NS/NT) x100 est toujours en augmentation tout au long de la période d'affinage. Les valeurs 5,443%, 12,739% et 10,565% au début de l'affinage, seront 22,766%, 22,069% et 21,747% à la fin de l'affinage dans T1, T2 et T3 respectivement. Ces résultats sont en accord avec Mangia *et al.* (2008) où ils révèlent des valeurs de 27% à la fin de la période de maturation après 7 mois d'affinage et avec Addis *et al.* (2005b) qui révèlent une augmentation de 7,7 et 8,8% au premier jour d'affinage à 19,6 et 20,2% après 60 jours.

Nos résultats sont loin de ceux de Madrau *et al.* (2006) qui montrent un indice de 34,4% à la fin de la période d'affinage qui a duré 7 mois. Ces valeurs élevées du coefficient de maturité sont dues à l'activité protéolytique des lactobacilles mésophiles présentes dans le levain (Mangia *et al.*, 2008), et à une meilleure rétention de protéines en

présence d'un pH élevé lors de l'affinage (Kandarakis *et al.*, 2001). Ces résultats sont en cohérence avec les valeurs de pH élevées dans T2 et T3, ce qui a favorisé et accéléré le processus de maturation.

En somme, l'indice de maturité du fromage montre que les trois transformations exécutées sont bien réussies. Par ailleurs, toutes les composantes de l'activité protéolytique décrites ci-dessus sont en faveur de la transformation T2 sauf pour l'azote total qui a été en faveur de T1.

3.5. Taux de la matière grasse et des acides gras libres

Le taux de la matière grasse et des acides gras libres au cours des trois transformations T1, T2 et T3 du fromage pendant toute la période d'affinage figure dans le tableau 13.

Tableau 13. Taux de matière grasse et des acides gras libres au cours des trois transformations T1, T2 et T3 du fromage pendant toute la période d'affinage (mg 100 g⁻¹ de fromage)

T	Durée d'affinage (jours)	Matière grasse*	C8	C10	C12	C14	C16	C18	C18:1	C18:2	C18:3	C20
T1	1	9,48	27,00	91,27	31,35	105,89	352,84	206,91	326,50	35,56	1,98	14,09
	30	22,74	56,90	244,35	86,93	278,49	892,99	473,21	805,43	90,09	33,19	36,67
	60	34,25	61,89	279,95	117,12	401,36	1309,79	657,51	1306,93	134,26	5,71	60,94
	90	57,59	112,08	590,01	213,75	700,48	2254,36	1155,20	2097,45	165,08	91,26	92,06
T2	1	10,45	34,57	129,87	44,02	128,13	388,74	336,88	336,88	39,66	1,89	20,92
	30	34,71	107,61	390,37	132,70	402,43	1300,43	613,79	1191,38	149,10	44,39	64,18
	60	40,12	121,02	436,69	153,37	469,03	1510,28	732,27	1359,70	179,58	54,66	72,50
	90	59,70	161,82	668,84	248,12	731,91	2246,35	1058,03	1950,10	218,25	34,02	82,15
T3	1	22,31	48,99	229,13	89,30	310,68	944,44	360,91	689,88	82,17	31,32	35,04
	30	34,02	63,84	114,45	40,67	530,62	1556,87	540,55	1218,73	136,68	49,18	57,22
	60	39,35	108,85	427,19	155,34	526,19	1658,99	643,25	1249,30	133,46	8,20	56,34
	90	53,84	154,90	601,65	223,00	731,86	2360,20	874,04	1696,44	192,32	70,34	80,07

T: Transformation ; *: g 100 g⁻¹ de fromage

Dans les trois transformations T1, T2 et T3, le taux de la matière grasse montre une augmentation tout au long de la période de l'affinage. Les valeurs 9,48 ; 10,45 et 22,31 g 100 g⁻¹ de fromage au début de l'affinage, deviennent 57,59 ; 59,7 et 53,43 g 100 g⁻¹ de fromage après 90 jours dans T1, T2 et T3 respectivement (Tableau 13). Mangia *et al.* (2008) rapportent une augmentation des valeurs de la matière grasse de 17,7 à 31,5 g

100 g⁻¹ de fromage après 210 jours. Le taux de la matière grasse au début de T3 est nettement élevé à comparer avec T1 et T2. D'une part, c'est en relation avec le développement élevé de la flore bactérienne dans T3 (Tableau 11) prouvé par (Madrau *et al.*, 2006) et d'autre part, c'est probablement dû au taux élevé de la matière grasse du lait de chèvre à la fin de la période de lactation à cause de l'avancement du stade de gestation qui influe sur la persistance de la production laitière (Coulon *et al.*, 1991).

Les acides linoléique (C18:2) et linoléique (C18:3) sont en progression tout au long de la période de maturation. Ils sont rencontrés principalement dans la phase terminale de l'affinage (Tableau 12) spécialement dans T1 et T2, grâce à la présence de l'enzyme lipolytique spécifique de L.C. actives (Yu, 1986). Cette relation avec la présence des L.C. est en accord avec nos résultats microbiologiques qui élucident nettement la prolifération des L.C. dans T1 et T2. Cette enzyme favorise la libération de courtes chaînes d'acide gras au début, puis des chaînes moyennes et enfin de longues chaînes à la fin de la période d'affinage (Gobbetty *et al.*, 1999 ; Kamaly *et al.*, 1990).

D'après le tableau 13, les acides myristique (C14), palmitique (C16) et oléique (C18:1) se trouvent à des taux élevés à la fin de la période d'affinage. Ceci est en accord avec les résultats obtenus par Madrau *et al.* (2006) et Sandri *et al.* (1997). Les acides caprylique (C8), caprique (C10) et laurique (C12) sont aussi en augmentation au cours de la période d'affinage.

4. ANALYSE SENSORIELLE DU FROMAGE SUIVANT LA RECETTE PECORINO AFFINE DURANT LES TROIS MOIS

L'analyse sensorielle des trois transformations T1, T2 et T3 du fromage au cours de toute la période d'affinage figure dans le tableau 14.

Tableau 14. Analyses sensorielles des trois transformations T1, T2 et T3 du fromage au cours de toute la période d'affinage

T	Durée d'affinage (jours)	Paramètres								
		Forme	Croûte	Couleur	Elasticité	Consistance	Uniformité	Odeur	Goût	Arrière goût
T1	3	6,28bA	1,57cC	7,28bA	4,85bA	6,28bA	4,14bA	6,71abA	6,43aA	5,85aA
T2		6,57bAB	5,28bB	8,85aA	8,28aA	8,57aA	9,00aA	6,14bB	7,43aA	7,28aA
T3		8,43aA	8,14aA	8,57aA	7,71aA	8,28aA	8,43aA	8,00aA	8,28aA	7,81aA
T1	30	3,28bB	4,14bB	5,14aC	3,57bAB	6,57bA	5,86aA	6,86abA	7,00aA	6,86aA
T2		5,28aAB	7,28aA	6,71aB	6,57aB	7,57aAB	7,00aB	7,57aA	7,57aA	7,86aA
T3		6,28aB	4,86bB	5,00aB	6,14aB	6,28bB	6,14aB	6,42bB	6,41aB	6,71aA
T1	60	5,42bC	6,14aA	6,86aAB	2,57cBC	3,14bB	5,42aA	7,00aA	7,14aA	6,57aA
T2		7,42aA	6,86aA	7,00aB	6,14aB	6,42aB	7,00aB	7,14aAB	6,28aA	7,43aA
T3		5,57bB	5,00aB	4,42bB	4,28bC	6,28aB	6,28aB	6,00aB	7,28aB	4,71bB

Autore : Edouard Tabet

Titolo: Etudes Microbiologiques et physicochimiques des laits caprins et technologie fromagère améliorée: Cas du lait "Baladi" du Liban

Tesi di Dottorato in Scienze dei Sistemi Agrari e Forestali e delle Produzioni Alimentari
Università degli Studi di Sassari

T1		4,57bC	5,71aAB	6,00aBC	1,57aC	4,42bB	5,57aA	6,14aA	6,00aA	5,86aA
T2	90	5,14abB	5,42aB	4,14aC	3,14aC	7,57aAB	6,81aB	7,28aAB	6,47aA	7,14aA
T3		6,14aB	5,00aB	5,57aB	2,28aD	6,86aB	5,86aB	6,28aB	6,57aB	6,00aAB

T: Transformation ;

abc : Différences significatives pour chaque paramètre entre les trois transformations et pendant la même durée d'affinage ($P \leq 0.05$).

ABCD : Différences significatives pour chaque paramètre et chaque transformation pendant différentes durées d'affinage ($P \leq 0.05$).

Le dépouillement des panels de dégustation a été analysé du point de vue structure (forme, croûte, couleur et uniformité) et caractéristiques organoleptiques (élasticité, consistance, odeur, goût et arrière-goût).

Du point de vue structure :

La forme : Les formes des fromages de T1, T2 et T3 ont été jugées visuellement et classées régulières. La forme de T3 a été la plus appréciée. Ceci peut être expliqué par le fait qu'à la 3^{ème} répétition, les préparations se faisaient avec plus d'habileté et d'expérience et par conséquent la présentation de la meilleure forme possible du fromage.

La croûte : La croûte des fromages de T2 a été la meilleure évaluée pendant toute la période d'affinage surtout après 1 mois et 2 mois de maturation ; alors qu'elle a régressé à la fin du 3^{ème} mois. La croûte de T3 a été la plus estimée au début de l'affinage pour être presque similaire à T1 et T2 à la fin de la période de maturation.

La couleur : La couleur a été jugée presque homogène et similaire dans T1, T2 et T3. Aucune différence significative n'a été signalée entre les trois transformations dans tous les stades de maturation.

L'uniformité : L'uniformité de la pâte a été jugée entre moyenne et élevée au cours de toute la période de l'affinage. Aucune différence significative n'a été signalée entre les trois transformations dans tous les stades de maturation.

Du point de vue organoleptique :

L'élasticité : Du point de vue élasticité, T2 a montré une homogénéité au cours de toutes les phases de maturation. Des différences significatives ont été signalées dans T1 et T3 et ceci dans tous les stades d'affinage.

La consistance : Les transformations T2 et T3 ont montré une consistance moyenne et élevée de la pâte.

L'odeur : La majorité des membres du jury avait consenti à la haute qualité aromatique des fromages des trois transformations. Aucune différence significative n'a été

signalée dans T1 au cours de toute la période d'affinage. Par contre, une petite différence significative a été remarquée entre le 3^{ème} jour et le reste des stades de la période d'affinage. Ceci est probablement dû à l'odeur forte du lait de chèvre qui diminue avec l'avancement de la maturation sous l'action de l'activité microbienne.

Le goût : Le goût des trois transformations de fromage ne diffèrent pas de façon significative dans T1 et T2. Une simple différence significative est perçue entre le début de la 3^{ème} transformation et les stades suivants. L'activité de la flore microbienne et l'avancement de l'affinage semblent être l'explication la plus raisonnable.

L'arrière goût : Les différences de perception pour l'arrière goût n'ont pas été nettement dégagées. Les fromages apparaissent peu affectés par le facteur durée d'affinage et stade de lactation.

Des études faites sur un fromage additionné de lactobacilles ont montré le développement et l'intensité de la saveur (Broome *et al.*, 1990 ; McSweeney *et al.*, 1994). Mais le choix des souches de lactobacilles doit être fait soigneusement afin de diminuer les arrière-goûts indésirables (Puchades *et al.*, 1989).

"There is a cheese for every taste-preference and a taste-preference for every cheese" (Olson, 1990).

CONCLUSION

D'après cette étude, on peut conclure que durant la 1^{ère} phase de notre travail de recherche, nous avons pu montrer que la race caprine Baladi, est la plus adaptée aux conditions agro climatiques et aux différents systèmes d'élevage souvent défavorables au Liban. Elle présente aussi une tolérance aux infections bactériennes qui influent négativement sur la production laitière. Alors que pour les autres races (Alpine, Saneen et Chami), leurs laits sont conformes aux normes microbiologiques, mais présentent un taux bactérien assez élevé. L'élevage caprin dans un système extensif donne un lait de bonne qualité microbiologique par rapport à celui produit dans un système intensif. Par contre, l'élevage à la Bekaa semble poser un problème hygiénique puisque le lait caprin produit dans cette région est non conforme aux normes microbiologiques.

En se référant aux analyses chimiques, le lait de la race Baladi est le plus riche en protéines, matière grasse et lactose. Il présente le meilleur profil en acides gras saturés et insaturés qui lui confèrent le goût « chèvre » typique. Le meilleur taux de calcium se trouve dans le lait de la race Alpine et le meilleur taux de phosphore se trouve dans le lait

des chèvres Saanen et Baladi. Bien que les races Alpine et Saanen présentent un bon niveau génétique et un bon état physiologique, une inversion des Taux Butyriques et Taux Protéiques est remarquée et qui ne s'explique que par un manque d'adaptation de ses races importées à l'environnement libanais (saison, température, technique d'élevage au Liban...).

L'élevage extensif des caprins au Liban présente un lait riche en protéines et en matière grasse par rapport à l'élevage intensif ; alors que ce dernier est meilleur du point de vue lactose, calcium et phosphore. Le facteur « altitude » est non significatif, puisqu'à la Bekaa, le lait est le plus riche en protéine et en matière grasse. En moyenne altitude, le profil des acides gras affectant le goût et la saveur tel que C4, C6, C10, est le plus remarquable. De même les taux de lactose, de calcium et de phosphore sont supérieurs à ceux des autres altitudes.

En somme, le lait de la race Baladi, s'est avéré d'une excellente qualité microbiologique et d'une composition chimique vénérable, pour être adopté dans la fabrication d'un fromage affiné.

C'est ainsi, que la seconde phase a été entamée. Des analyses microbiologiques, physicochimiques et organoleptiques ont été réalisées sur le fromage procédé à partir du lait de chèvre Baladi, après une pasteurisation et selon la recette italienne Pecorino Sardo, en utilisant un levain formé des trois souches lactiques *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus casei* et *Streptococcus thermophilus*. Les résultats obtenus dans cette deuxième phase marquent vivement la réussite et la bonne qualité des trois transformations.

En réalité, au cours des transformations T1 et T2, le compte total des bactéries nuisibles était élevé; il a diminué progressivement avec la durée d'affinage. Cela prouve la prolifération des bactéries lactiques, rendant le milieu de plus en plus acide, suite à la sécrétion d'acide lactique responsable de l'inhibition des microorganismes et de l'accélération de l'affinage du fromage (Martley et Crow, 1993). Le taux des bactéries lactiques augmente rapidement durant les trois premiers jours. Les S.T. étant plus résistantes dans un milieu acide, continuent leur prolifération progressivement au cours de l'affinage et deviennent plus ou moins constante après deux mois d'affinage ; les valeurs sont Log cfu g⁻¹ 10,1 et 10,6 au 3^{ème} mois en T1 et T2 respectivement. Les S.T. ont dominé L.C. et L.L. dont les valeurs sont Log cfu g⁻¹ 7,3 et 7, 6 et 6,7 en T1 et T2 respectivement.

La valeur du pH la plus élevée à la fin de la période d'affinage montre probablement le meilleur niveau de protéolyse. La nette augmentation de l'acidité prouve que la fermentation du fromage est bien réussie et par conséquent sa bonne conservation. Parallèlement à la diminution du taux d'humidité 58,6% et 69,6% le 1^{er} jour pour atteindre 17% et 20,9% après 90 jours d'affinage dans T1 et T2 respectivement, une augmentation est remarquée au niveau de la dureté du fromage ainsi que des paramètres de texture, consistance et élasticité (Bhaskaracharya et Shah, 2001). La diminution de l'humidité et par suite l'augmentation de la matière sèche sont des indicateurs de réussite de la fabrication du fromage. De même la réduction de l'activité de l'eau dans le fromage et la diminution de l'humidité en T1 et T2 sont des conséquences de la concentration du sel et de l'augmentation de la fraction d'azote soluble dans l'eau (Prietto *et al.*, 2002).

Le taux de l'azote total montre un accroissement tout au long de la période d'affinage, mais il se stabilise presque entre le 2^{ème} et le 3^{ème} mois. De même l'augmentation de l'azote non protéique de 0,152 à 0,395% et de 0,282 à 0,8417% en T1 et T2 respectivement, de l'azote soluble dans l'eau NS de 0,219 à 1,391% en T1 et de 0,399 à 1,143% en T2, et le taux élevé de l'NNP en T2 indiquent une activité vigoureuse des bactéries lactiques (Furtado et Partridge, 1988) et permettent de mettre en évidence les capacités protéolytiques du levain dans le fromage (Farkey *et al.*, 1995). L'indice (NNP/NT) x 100 relatif à l'index d'affinage est le plus élevé dans T2, il débute à 9,004% au 1^{er} jour d'affinage pour atteindre 16,240 % après 90 jours d'affinage ; c'est aussi un indicateur du développement des divers composés d'azotes, tel que les acides aminés libres. L'indice de maturité (NS/NT) x 100 est toujours en augmentation tout au long de la période d'affinage ; il atteint 22,766% et 22,069% en T1 et T2 respectivement. Ceci montre la bonne activité protéolytique des lactobacilles mésophiles présentes dans le levain (Mangia *et al.*, 2008), et à une meilleure rétention de protéines en présence d'un pH élevé lors de l'affinage (Kandarakis *et al.*, 2001). Par ailleurs, toutes les composantes de l'activité protéolytique relevées sont en faveur de la transformation T2 sauf pour l'azote total qui a été en faveur de T1.

La matière grasse montre une augmentation tout au long de la période de l'affinage. Les valeurs 9,48 et 10,45 g 100 g⁻¹ de fromage au début de l'affinage, deviennent 57,59 et 59,7 g 100 g⁻¹ de fromage après 90 jours en T1 et T2 respectivement. Les acides linoléique (C18:2) et linoléique (C18:3) sont en progression tout au long de la période de maturation. Ils sont rencontrés principalement dans la phase terminale de

l'affinage spécialement dans T1 et T2, grâce à la présence de l'enzyme lipolytique spécifique de L.C. actives (Yu, 1986). Cette relation avec la présence des L.C. est en accord avec les résultats microbiologiques qui élucident nettement la prolifération des L.C. dans T1 et T2. Cette enzyme favorise la libération de courtes chaînes d'acide gras au début, puis des chaînes moyennes et enfin de longues chaînes à la fin de l'affinage (Gobbetty *et al.*, 1999 ; Kamaly *et al.*, 1990). Les acides myristique (C14), palmitique (C16) et oléique (C18:1) se trouvent à des taux élevés à la fin de la période d'affinage.

Pour la transformation T3, tous les paramètres microbiologiques et physicochimiques sont à des valeurs basses.

Toutes les analyses organoleptiques réalisées démontrent la bonne qualité de ce fromage produit en T1 et T2. De même l'odeur forte du lait de chèvre diminue avec l'avancement de la maturation sous l'action de l'activité microbienne.

La différence constatée entre les transformations en T1, T2 et T3 pourrait être en relation avec la composition du lait en lactose, protéines et matières grasses produit en début et mi-stade de lactation. A la fin de la période de lactation, la chèvre est mal nourrie et trop affaiblie ; ceci peut affecter la qualité du lait.

Ainsi on peut déduire, que plus le nombre de bactéries lactiques est élevé plus le processus d'affinage est amélioré ; et plus les taux d'acidité, d'humidité, de protéines, de fractions d'azotées, d'activité de l'eau et de la matière grasse sont élevés, plus l'intensité de la saveur est prononcée.

En conclusion, on peut affirmer que tous les objectifs de recherche scientifique ont été atteints. Toutes les études et les analyses nécessaires aux choix et à la transformation d'un lait de chèvre en fromage affiné ont été effectués, et nous pouvons à présent, proposer aux éleveurs et producteurs libanais, une nouvelle recette qui leur permettra de fructifier leurs ressources laitières tout au long de l'année et non durant une seule saison.

En perspectives, nous recommandons et nous envisageons de poursuivre des travaux complémentaires portant sur des fabrications fromagères en étudiant l'influence de la flore indigène du lait sur le comportement du levain et par la suite sur la qualité fromagère et surtout la saveur.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Addis, M., Piredda, G., Pes, M., Di Salvo, R., Scintu, M.F. and Pirisi, A., 2005a. Effect of the use of three different lamb paste rennets on lipolysis of the PDO Pecorino Romano Cheese. Istituto Zootecnico e Caseario per la Sardegna, Loc. Bonassai, 07040 Olmedo, Italy. 15: 563-569.

Addis, M., Pirisi, A., Di Salvo, R., Podda, F. and Piredda, G., 2005b. The influence of the enzymatic composition of lamb rennet paste on some properties of experimentally produced PDO Fiore Sardo cheese. Istituto Zootecnico e Caseario per la Sardegna, Loc. Bonassai, 07040 Olmedo, Italy.

Afnor, 2003. Contrôle de la qualité des produits laitiers, analyses physiques et chimique.

Agabriel, C., Coulon. J.B., Journal. C., De Rancourt. B., 2001. Composition chimique du lait et systèmes de production dans les exploitations du Massif Central. INRA Prod. Anim., 119-128 pp.

AOAC, 2005. Association of Official Analytical Chemists 18th edition. International Methods of Analyses, U.S.A.

Bhaskaracharya, R. K. and Shah, N. P., 2001. Texture and microstructure of Mozzarella. Dairy Industries International, 66: 42-45.

Bonfoh, B., Wasem, A., Roth, C., Hetzel, M., Steinmann, P. et Zinsstag, J., 2006. L'hygiène et la qualité sanitaire du lait et des produits laitiers. Implications en santé publique. Note méthodologique n°8 ITS/INSA.

Bouton, Y., Guyot, P. and Grappin, R., 1998. Preliminary characterization of microflora of Comté cheese. Journal of Applied Microbiology, 85: 123-131.

Broome, M. C., Krause, D. A. and Hickey, M. W., 1990. The use of non-starter lactobacilli in Cheddar cheese manufacture. Australian Journal of Dairy Technology, 45: 67-72.

Bütikofer, M., Rüeegg, M. and Ardö, Y., 1993. Determination of nitrogen fractions in cheese: evaluation of a collaborative study. Lebensm. Wiss. Technology, 26: 271-275.

Buriti, F., Da Rocha, J. and Saad, S., 2005. Incorporation of Lactobacillus acidophilus in Minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage. Departamento de Tecnologia Bioquímica-Farmacêuticas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Av. Prof. Lineu Prestes, 580, 05508-000 São Paulo, SP, Brazil.

Casalta, E., Vassal, Y., Desmazeaud, M. J., et Casabianca, 1995. Comparaison de l'activité acidifiante de souches de *Lactococcus lactis* isolées de lait de fromage de Corse. *Lebensm.-Wiss. U.-Technology*, 28: 291-299.

Centeno, J. A., Cepeda, A. and Rodriguez-Otero, J. L., 1996. Lactic acid bacteria isolated from Arzúa cows' milk cheese. *International Dairy Journal*, 6: 65-78.

De Man, J. C., Rogosa, M. and Sharpe, M. E., 1960. A medium used for the cultivation of lactobacilli. *Journal of Applied Bacteriology*, 23: 130-138.

Di Cagno, R., Banks, J., Sheehan, L., Fox, P., Brechany, E. Y., Corsetti, A. and Gobbetti, M., 2003. Comparison of the microbiological, compositional, biochemical, volatile profile and sensory characteristics of three Italian PDO ewe's milk cheese. *International Dairy Journal*. 13: 961-972.

Dulin, A.M., Paape, M.J., Wergin, W.P., 1982. Differentiation and enumeration of somatic cells in goat milk. *J Food Prot* ,10 :435-439 pp.

Dumoulin, E., Peretz, G., 1993. *Qualité bactériologique du lait cru de chèvre en France*, Elsevier / INRA, 73 p.

Eck, A., 1987. *Le fromage*. Lavoisier technique et documentation, 2ème édition, Paris, 539 p.

FAO, 1997. *Production yearbook*, vol. 50, Rome Italy.

Farkey, N. Y., Madkor, S. A. and Atkins, H. G., 1995. Proteolytic Abilities of some Lactic Acid Bacteria in a Model Cheese System. *International Dairy Journal*, 5: 715-725.

François, M., Luquet, F.M., (1986) *Le fromage de chèvre fermier : une réalité, la technique fromagère : une nécessité*. FRECAP, 120 p.

Furtado, M. M. and Partridge, J. A., 1988. Characterization of nitrogen fractions during ripening of a soft cheese made from ultrafiltration retentates. *Journal of Dairy Science*, 71: 2877-2844.

Galistu, G., Piredda, G., Pirisi, A., Scintu, M. F., and Ledda, A., 1998. Pecorino Romano: hard cooked ewe's milk cheese, "Basis of the quality of typical Mediterranean animal products". EAAP publication, Wageningen Pers, Wageningen, The Netherlands, 90: 178-181.

Gobbetty, M., Lanciotti, R., De Angelis, M., Corbo, M. R., Massini, M. R. and Fox, P., 1999. Study of the effects of temperature, pH, NaCl and aw on the proteolytic and lipolytic activities of cheese-related lactic acid bacteria by quadratic response surface methodology. *Enzyme and microbial Technology*, 25: 795-809.

Hilan, C., Abi Saab, S., El Hage, E., 1999. Certaines caractéristiques phénotypiques et productives de la race caprine, 25p. Etude non publiée.

INRA, 2007. La fabrication du fromage, les connaissances. Mission Communication, 15 septembre 2008.

http://www.inra.fr/la_science_et_vous/apprendre_experimenter/aliments_fermentes/lefromage/la_fabrication_du_fromage_les_connaissances

Kamaly, K. M., Johnson, M. E. and Marth, E. D., 1989. Characteristics of Cheddar cheese made with mutant strains of lactic streptococci as adjunct sources of enzyme. *Milchwissenschaft*, 44: 343-346.

Kamaly, K. M., Takayama, K. and Marth, E. H., 1990. Acylglycerol acylhydrolase (lipase) activities of *Streptococcus lactic*, *Streptococcus cremoris* and their mutant. *Journal of Dairy Science*, 73: 280-290.

Kandarakis, I., Moastsou, G., Georgala, A. I. K., Kaminarides, E. and Anifantakis, E., 2001. Effect of draining temperature on the biochemical characteristics of Feta cheese, *Food Chem.* 72: 369-378.

Madrau, M. A., Mangia, N. P., Murgia, M. A., Sanna, M. G., Lecis, L., Garau, G. and Deiana, P., 2005. Autochthonous microflora and quality improvement of Pecorino Sardo cheese. *Dipartimento di Scienze Ambientali Agrarie e Biotechnologie Agro-Alimentari, Sezione di Microbiologia Agraria, Università degli Studi di Sassari, V. 39, 07100 Sassari, Italy.*

Madrau, M. A., Mangia, N. P., Murgia, M. A., Sanna, M. G., Garau, G., Leccis, L., Caredda, M. and Deiana, P., 2006. Employment of autochthonous microflora in Pecorino Sardo cheese manufacturing and evolution of physicochemical parameters during ripening. *International Dairy Journal*, 16: 876-885.

Mangia, N. P., Murgia, M. A., Garau, G., Sanna, M. G. and Deiana, P., 2008. Influence of selected lab cultures on the evolution of free amino acids, free fatty acids and Fiore Sardo cheese microflora during the ripening. *Food Microbiology*, 25: 366-377.

Mannu, L., Paba, A., Pes, M., Floris, R., Scintu M. F. and Morelli, L., 1999. Strain typing among enterococci isolated from home-made Pecorino Sardo Cheese. *FEMS Microbiology Letters*, 170: 25-30.

Mannu, L., Riu, G., Comunian, R., Fozzi, M. C. and Scintu, M., 2001. A preliminary study of lactic acid bacteria in whey starter culture and industrial Pecorino Sardo ewes' milk cheese: PCR-identification and evolution during ripening. *Istituto Zootecnico e Caseario per la Sardegna, Località Bonassai, I-07040 Olmedo (SS), Italy.*

Martley, F. G. and Crow, V. L., 1993. Interactions between non-starter microorganisms during cheese manufacture and ripening. *International Dairy Journal*, 3: 461-484.

Mathieu, M., 1998. *Initiation à la physicochimie du lait*, Tec and Doc, Lavoisier. 270p.

McSweeney, P. L. H., Walsh, E. M., Fox, P. F., Cogan, T. M., Drinan, F. D. and Castelo-Gonzalez, M., 1994. A procedure for the manufacture of Cheddar cheese under controlled

bacteriological conditions and the effect of adjunct lactobacilli on cheese quality. *Ir. J. Agric. Food Res.*, 33: 183-192.

Ministère de l'Agriculture, 2005. Recensement agricole, 122 p.

Ministère de l'Agriculture, 2006. Recensement agricole, 122 p.

Morgan, S. M., O'Sullivan, L., Ross, R. P. and Hill, C., 2002. The design of a three strain Starter system for Cheddar cheese manufacture exploiting bacteriocin-induced starter lysis. *International Dairy Journal*, 12: 985-993.

Pérez Elortondo, F. J., Aldámiz Echobarria, P., Albisu, M. and Barcina, Y., 1998. Indigenous lactic acid bacteria in Idiazábal ewes' milk cheese. *International Dairy Journal*, 8: 725-732.

Perrin, G.G., Baudry, C., 1993. Qualité hygiénique du lait de chèvre, Numérations cellulaires du lait de chèvre, Elsevier / INRA, 73 : 489-497.

Peter, A., Zollikofer, E., Badoux, F., 1953. Manuel de la fabrication du fromage d'emmental, Edition des Hoys, Berne 3ème édition, France.

Prieto, B., Franco, I., Prieto, J. G., Bernardo, A. and Carballo, J., 2002. Proteolytic and lipolytic changes during the ripening of Leon raw cow's milk cheese, a Spanish traditional variety. *International Journal of Food Science and Technology*, 37: 661-671.

Psoni, L., Tzanetakis, N. and Litopoulou-Tzanetaki, E., 2003. Microbiological characteristics of Batzos, a traditional Greek cheese from raw goat's milk. *Food Microbiology*. 20: 575-582.

Puchades, R., Lemieux, L. and Simard, R. E., 1989. Evolution of three amino acids during the ripening of Cheddar cheese containing added lactobacilli strains. *Journal of Food Science*, 54: 885-888, 946.

Sandri, S., Fossa, E., Pecorari, M., Summer, A. and Mariani, P., 1997. Osservazioni sull'andamento della lipolisi nel corso della maturazione del Parmigiano-reggiano. *Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia*, 48: 243-252.

St-Gelais, D., Ould Baba, A., Turcot, S., 2000, Composition du lait de chèvre et aptitude à la transformation, *agriculture et agroalimentaire Canada*, 20p.

Yu, J. H., 1986. Studies on the extracellular and intracellular lipase of *Lactobacillus casei*. I. On the patterns of free fatty acids liberated from milk reacted with the lipases. *Korean Journal of Dairy Science*, 8: 167-176.